

pletamente. Sin embargo, los micro-ARN (miARN) pueden ayudar a identificar los genes expresados en esta enfermedad. Los miARN son moléculas de ARN cortas, que varían entre 19 y 25 nucleótidos, que participan en la regulación postranscripcional, influyendo en numerosos procesos biológicos. La desregulación de los miARN puede contribuir a la progresión de múltiples enfermedades. **Objetivo:** evaluar el papel del miR-126 y miR-3,188 en la identificación de la susceptibilidad a la artritis reumatoide en familiares de primer grado con esta enfermedad. **Material y métodos:** se recopilaron datos clínicos, antropométricos y demográficos de cada uno de los tres grupos estudiados: pacientes con AR, familiares y controles. Se recolectaron muestras de sangre periférica para la extracción de ARN y ADN. Se realizaron análisis mediante RT-qPCR utilizando el equipo Rotor-Gene Q 5plex HRM system y el kit RT SYBR Green qPCR Mastermix, que incluye oligonucleótidos prediseñados para el miRNA-126 y miR-3188, empleando el gen RPL27 como referencia. Las muestras se almacenaron en un biobanco a -80°C . **Resultados:** se analizó una población final de 31 participantes, en su mayoría mujeres: 29 mujeres (93.55%) y 2 hombres (6.45%); 83.87% de los participantes proviene del centro del país, siendo la Ciudad de México la mayor representante con 67.74%. Además, se observó que la mayoría de los padres y abuelos de la población estudiada también eran originarios de la Ciudad de México (93.55 y 45.16%, respectivamente) y del Estado de México (16.13 y 32.2%, respectivamente). Las características demográficas, clínicas y de laboratorio de la población mostraron que los valores de p no fueron significativos, indicando que las características de los grupos son similares y no introducen sesgos en el análisis de la expresión de miRNA. El análisis de la expresión del miR-126 en sangre periférica mediante RT-PCR en tiempo real no mostró una diferencia significativa ($p = 0.5256$), mientras que el miR-3,188 disminuyó su expresión en el grupo de AR comparado con los controles ($p = 0.0255$), no se encontró diferencia entre el grupo control y los familiares ($p = 0.5689$). **Conclusiones:** la población de estudio, así como sus padres y abuelos, pertenecen principalmente a la zona centro del país, con un mayor número de ellos establecidos en la Ciudad de México. No se encontraron diferencias significativas en los datos demográficos, clínicos y de laboratorio. La expresión del miR-3188 se sugiere como biomarcador en el diagnóstico de AR.

05 Estudio del microsatélite Rep-1 del gen alfa sinucleína en pacientes con la enfermedad de Parkinson idiopática

Arturo Gálvez Rosas,* Cristian Marroquí Sánchez,*[‡]
Rogelio Paniagua Pérez,*[§] Paul Carrillo Mora,*[¶]
José A Martínez Cortez,*^{||} Claudia Hernández Arenas,*^{**}
Antonio Verduzco Mendoza,*^{‡‡} Alberto Ávila Luna,*[‡]
Antonio Bueno Nava*[‡]

* Instituto Nacional de Rehabilitación «Luis Guillermo Ibarra Ibarra», México. [‡] Neurociencias Básica.

[§] Servicio de Bioquímica. [¶] Neurociencias Clínicas.

^{||} Servicio de Neurología. ^{**} Servicio de Daño Cerebral Adquirido. ^{‡‡} Bioterio y Cirugía Experimental.

Introducción: la enfermedad de Parkinson (EP) es un padecimiento neurodegenerativo, altamente incapacitante que se manifiesta clínicamente por los síntomas motores como temblor en reposo, bradicinesia, rigidez muscular e inestabilidad postural. Cuando es diagnosticada la EP, en el cerebro del paciente ya se han degenerado más de 70% de las neuronas dopaminérgicas. Por lo tanto, es importante la búsqueda de un biomarcador confiable para el diagnóstico y crucial para la evolución del padecimiento. En el gen de la alfa sinucleína (α -Syn), se ha identificado un dinucleótido de tipo microsatélite denominado Rep-1 que podría utilizarse como un biomarcador de riesgo en la EP. **Objetivo:** evaluar las variantes del

microsatélite Rep-1 del gen α -Syn en pacientes con la EP idiopática. **Material y métodos:** se realizó un estudio de casos y controles, donde se reclutaron 15 pacientes con EP en el Servicio de Neurología y 15 controles sin la enfermedad que fueron voluntarios de la consulta externa del Instituto Nacional de Rehabilitación «Luis Guillermo Ibarra Ibarra». Posteriormente se les tomó una muestra de sangre periférica para la extracción de ADN genómico. Para el análisis de la longitud de los fragmentos repetidos Rep-1 se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la genotipificación de los repetidos dinucleótidos se realizó en un secuenciador de ADN ABI PRISM 3500xL, usando estándares GeneScan FAM 500. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS V23 para Windows. Se realizó estadística descriptiva mediante pruebas de tendencia central, y se revisó la posible asociación utilizando la prueba de χ^2 y t de Student. Además, se calculó la probabilidad de riesgo debido al reducido número de pacientes. **Resultados:** se analizaron 30 pacientes; 15 con diagnóstico de EP y 15 controles. El promedio de edad en los pacientes con EP idiopática fue de 65 ± 6.4 años, y de 61 ± 6.1 años en los controles sanos. Por otra parte, en cuanto al género, hubo 5 (33.3%) hombres y 10 (66.7%) mujeres en ambos grupos, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas. El análisis de los fragmentos mostró que el alelo Rep-1 de 265 pb fue el alelo más frecuente en ambos grupos (63.3%), seguido por la variante Rep-1 de 267 pb con una frecuencia de 20% en los pacientes y 23.3% en los controles. Se formaron tres grupos de variantes alélicas; alelo corto (246, 248, y 257 pb), alelo intermedio (265 pb) y alelo largo (266, 270 pb). Donde se pudo observar una mayor significancia de los alelos más largos con los pacientes con EP con una probabilidad de riesgo de 1.37 y una $p = 0.09$. **Conclusiones:** la identificación del microsatélite Rep-1 del gen α -Syn está mostrando una tendencia de los alelos de mayor tamaño (> 265 pb) como un factor de riesgo para presentar la EP idiopática.

06 Implementación del sistema CRISPR/Cas13 para la degradación del RNA mensajero mutante de ATXN7 de la ataxia espinocerebelosa tipo 7

Marco Jácome Del Ángel,* Mauricio Hernández Somilleda,*[‡]
Rocío Suárez Sánchez,[§] José Manuel Hernández Hernández,*[‡]
Oscar Hernández Hernández[§]

* Centro de Investigación y Estudios Avanzados, México. [‡] Genética y Biología Molecular. [§] Medicina Genómica, Instituto Nacional de Rehabilitación «Luis Guillermo Ibarra Ibarra», México.

Introducción: la ataxia espinocerebelosa tipo 7 (SCA7) es un raro trastorno neurodegenerativo autosómico dominante caracterizado por ataxia progresiva y deterioro visual. Esta enfermedad ocurre debido a la expansión de repetidos CAG en el gen ATXN7, la cual provoca que la proteína afectada tenga una ganancia de función tóxica, causando el secuestro de diferentes moléculas. Debido a que la SCA7 es una enfermedad incurable, existe la necesidad de desarrollar terapias más efectivas para su tratamiento. Es por esto por lo que este trabajo pretende desarrollar un sistema que degrade el ARN mensajero mutado de SCA7 usando el sistema CRISPR/Cas13 en fibroblastos derivados de pacientes con SCA7. **Objetivo:** implementar un método de degradación del ARN mensajero mutante de ATXN7 utilizando el sistema CRISPR/Cas13a a través de un sistema lentiviral. **Material y métodos:** se utilizaron fibroblastos humanos control (GM03440) y de SCA7 (GM03561) adquiridos del *Coriell Institute for Medical Research*; mediante PCR se analizó la presencia del SNP rs3774729, previamente asociado con la mutación de SCA7 y se confirmó la presencia de la mutación en los fibroblastos de SCA7 GM03561. Se diseñaron y clonaron en un sistema lentiviral crRNAs dirigidos a tres diferentes regiones del

transcrito de ATXN7: 1) la región de repetidos CAG, 2) la región del SNP rs3774729 y 3) la región más accesible determinada *in silico*. Al mismo tiempo, se generó una línea estable que expresa la proteína LwCas13a en los fibroblastos GM03561. La expresión de LwCas13a se confirmó mediante fluorescencia y Western blot. Finalmente, se infectó dicha línea estable con los vectores que contienen los distintos sgRNAs y se estandarizó una RT-qPCR para la detección de la expresión del transcrito de ATXN7 mutante. **Resultados:** se determinó la presencia del SNP rs3774729 y de la mutación de SCA7 (54 repetidos CAG) en los fibroblastos GM03561 y la ausencia del SNP y de la mutación en los fibroblastos control GM03440. Se ligaron correctamente los tres crRNAs del sistema de degradación CRISPR/Cas13a en vectores de expresión lentiviral, estas clonaciones se verificaron mediante secuenciación. Adicionalmente, se detectó en el cultivo de fibroblastos GM03561 la expresión de la nucleasa Cas13a luego de la infección lentiviral. También se estandarizó la técnica de RT-qPCR para evaluar los niveles de transcrito de ATXN7 en fibroblastos de SCA7. **Conclusiones:** se generaron los componentes del sistema CRISPR/Cas13a mediante expresión lentiviral en una línea de fibroblastos humanos con SCA7. De igual manera, identificamos la presencia del SNP rs3774729 en los fibroblastos GM03561, lo cual nos permitirá evaluar la especificidad del sistema CRISPR/Cas13a sobre el RNA mensajero mutante de SCA7.

07 Evaluación del efecto de la administración de glutatión liposomal sobre la actividad de glutatión peroxidasa y tioles totales en ratas Wistar macho

Laura Daniela Estrada Romo,* Breindel González Escorza,† Ireri Hernández Rojas,‡ Luis Tristán López,§ Araceli Díaz Ruiz,§ Carlos Javier Pineda Villaseñor,*¶ Antonio Bueno Nava,*|| Alberto Ávila Luna,*|| Kiryag J Hernández Morales,** Maryana IE Mayrén López,** Javier Aguilar Rosas,** Camilo Ríos,*§§ Betzabeth A García Martínez*||

* Instituto Nacional de Rehabilitación «Luis Guillermo Ibarra Ibarra», México. † División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. § Neuroquímica, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, México. ¶ Dirección General. || Neurociencias Básica. ** Gerencia de Aseguramiento de Calidad, Lífixx, México. ‡ Laboratorio de Físicoquímica y Reactividad de Superficies del Instituto de Investigación en Materiales, Universidad Nacional Autónoma de México, México. §§ División de Neurociencias.

Introducción: el glutatión liposomal es un suplemento que presuntamente tiene una mejor absorción en comparación con otras formas de administración, debido a la encapsulación en fosfolípidos que protegen el glutatión de la degradación en el tracto gastrointestinal. Aunque el glutatión liposomal está diseñado para mejorar la absorción, la eficacia y biodisponibilidad puede variar y estar limitada, incluso en esta forma farmacéutica. Los estudios muestran una alta variabilidad en los resultados sobre la efectividad del glutatión liposomal al aumentar los niveles plasmáticos o celulares de glutatión. Y puede diferir entre individuos debido a factores como la salud, el estado nutricional y la genética. **Objetivo:** evaluar el efecto de la administración de glutatión liposomal sobre la concentración de tioles totales y la actividad de glutatión peroxidasa como biomarcadores de procesos antioxidantes. **Material y métodos:** se utilizaron 20 ratas Wistar (250-270 g) divididas en cuatro grupos de tratamiento (n = 5): G1: vehículo; G2: N-acetilcisteína (266 mg/kg); G3: glutatión liposomal de referencia; y G4: glutatión liposomal de prueba (500 mg/kg). Los tratamientos se administraron vía oral diariamente du-

rante 14 días. Posteriormente fueron sacrificados por decapitación previa sensibilización el día 15 y se tomaron muestras de sangre, cerebro (estriado e hipocampo) e hígado. Todos los procedimientos y el manejo de animales se realizaron conforme a la NOM-062-ZOO-1999. Determinación de tioles totales: para la determinación de tioles totales se empleó el método desarrollado por Hu en 1994, previamente validado. Determinación de glutatión peroxidasa: la actividad enzimática se determinó usando un método de oxidación no enzimático empleando el reactivo de Ellman. Análisis estadístico: se emplearon pruebas paramétricas (ANOVA; p = 0.05) para las variables que cumplieron con los supuestos de homogeneidad de varianza y normalidad. **Resultados:** posterior a la administración diaria, la cuantificación de tioles totales en plasma con administración de NAC fue de $138.41 \pm 22\%$; mientras que para los grupos de GSH liposomal referencia y producto de prueba fue de $133.46 \pm 11.7\%$ y $152.7 \pm 9.8\%$, respectivamente. Por otra parte, la actividad enzimática de glutatión peroxidasa a nivel cerebral (estriado e hipocampo) y en hígado se mantuvo a una concentración de $100 \pm 8\%$ entre los diferentes tratamientos. Esto nos indica que los niveles de tioles totales no aumentan significativamente a pesar de una administración de glutatión liposomal, debido a que una vez absorbido, el glutatión en el hígado es metabolizado rápidamente o es empleado en los procesos antioxidantes emergentes y de desintoxicación, lo que limita revelar su aumento en tioles. Finalmente, se cuenta con mecanismos reguladores para mantener la homeostasis del glutatión peroxidasa endógeno, por lo que una administración de glutatión liposomal podría no ser suficiente para alterar significativamente las concentraciones basales. **Conclusiones:** la concentración de tioles totales y la actividad de glutatión peroxidasa endógena conserva una homeostasis en los individuos de prueba posterior a una suplementación de N-acetilcisteína (266 mg/kg); sin embargo, estas variables aumentaron discretamente en el grupo de prueba (500 mg/kg); y se confirmará al evaluar el nivel de glutatión.

08 Análisis de expresión del gen RERE en leucocitos derivados de pacientes con enfermedad de Huntington

Esperanza Teresa Ramos Calleja,* Alberto Hidalgo Bravo,*‡ Mónica Santamaría Olmedo*‡

* Instituto Nacional de Rehabilitación «Luis Guillermo Ibarra Ibarra», México. ‡ Medicina Genómica.

Introducción: la enfermedad de Huntington es la enfermedad neurodegenerativa monogénica más común en países occidentales. Es producida por la expansión del repetido CAG > 36 que genera ganancia de función en la proteína huntingtina y conlleva a la formación de trectos de poliglutamina muy largos. El gen RERE (dipéptidos repetidos de arginina-ácido glutámico) interacciona con trectos de poliglutamina producto de la expansión de repetidos CAG de atropina 1, contribuyendo a la formación de agregados proteínicos. **Objetivo:** analizar la expresión del gen RERE en leucocitos derivados de pacientes con enfermedad de Huntington. **Material y métodos:** se incluyeron 19 pacientes con la enfermedad y 19 controles sanos pareados por edad y sexo. Se realizó extracción y purificación de RNA, con cuantificación de la expresión mediante PCR por tiempo real (RT-qPCR). **Resultados:** los resultados de este proyecto de investigación mostraron una expresión diferencial estadísticamente significativa en los niveles del gen RERE entre los pacientes con enfermedad de Huntington e individuos neurológicamente sanos, con una expresión aumentada en individuos con la enfermedad. **Conclusiones:** hasta la fecha desconocemos de qué manera la sobreexpresión de RERE está involucrada en los mecanismos patogénicos de la enfermedad de Huntington. Es necesario conducir estudios adicionales para dilucidar el papel de RERE en la fisiopatología de la enfermedad de Huntington.