

NOMBRE DEL PROYECTO ESPECÍFICO

Extracción de RNAm de muestras de sangre de pacientes con esquizofrenia y de sujetos control.

PROYECTO GENÉRICO CORRESPONDIENTE

Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos.

JUSTIFICACIÓN DE LA ETAPA EN LA QUE SE PARTICIPA (ANTECEDENTES)

La esquizofrenia (ESQ) es una enfermedad mental compleja que tiene repercusiones sobre el neurodesarrollo, comprometiendo la calidad de vida de quienes la padecen. La Secretaría de Salud mexicana estima que este padecimiento afecta a más de un millón de personas de la población, tal como lo reportan Escamilla y colaboradores en la Gaceta Médica de México del año 2021. En general, se caracteriza por una neurodegeneración acelerada, se ha reportado que la esperanza de vida es de 10 a 25 años más corta en quienes la padecen, así como una tasa de mortalidad dos veces mayor al compararla con la población general. Esto ha sido observado tanto en pacientes que no tienen oportunidad de recibir un tratamiento apropiado como en aquellos que reciben atención de salud adecuada, por lo que se ha discernido que dichos factores no explican la mortalidad acelerada y a su vez ha llevado a un interés creciente por explorar los mecanismos neurobiológicos y las bases patológicas de la enfermedad que hasta el día de hoy no se tienen totalmente claras. Es por ello que recientemente se ha propuesto el análisis de biomarcadores relacionados con el envejecimiento acelerado; por ejemplo, se han identificado genes asociados con ESQ que muestran una expresión irregular con perfiles de metilación característicos asociados al envejecimiento acelerado, (Wu, Ye, Wang, & Zhao, 2020). Además, se ha encontrado una correlación directa entre la esperanza de vida disminuida de los pacientes y la disminución de la longitud telomérica como resultado de procesos inflamatorios y estrés oxidativo que son persistentes en ESQ, (Corfdir, Pignon, Szöke, & Schürhoff, 2021). Sin duda, el resultado de diversas investigaciones sobre ESQ representa un gran avance en la comprensión de los mecanismos moleculares involucrados en la enfermedad y resaltan la importancia de realizar estudios moleculares en la población mexicana con la finalidad de contribuir al bienestar de los pacientes.

Con la finalidad de comprender mejor los mecanismos causales de la patología y los biomarcadores que nos ayuden a identificar características específicas de dicho padecimiento, es necesario realizar investigaciones moleculares, las cuales tienen como punto de partida la extracción de ácidos nucleicos, siendo esta la primera etapa de los protocolos de investigación en el área de la genética molecular y representa una fase de suma importancia para el correcto desarrollo de estas investigaciones, en este sentido, es necesario establecer el método a utilizar estableciendo las condiciones óptimas así como los reactivos necesarios. Si bien es cierto que podemos aplicar técnicas convencionales con este fin, actualmente disponemos de estuches comerciales específicos para el aislamiento de ácidos nucleicos (DNA o RNA), los cuales en general consisten en una serie de pasos en común: lisis de las estructuras celulares, desnaturalización de proteínas de membrana y/o nucleares, remoción de lípidos, inactivación de nucleasas, precipitación y purificación del ácido nucleico, el cual posteriormente puede ser cuantificado mediante métodos espectrofotométricos, así como analizado cualitativamente para determinar su integridad al realizar electroforesis en geles apropiados, todo esto con la finalidad de obtener material genético de calidad para emplearse con distintos fines de investigación, por lo tanto, el presente trabajo tiene como finalidad establecer la extracción de RNA del paquete leucocitario obtenido de muestras sanguíneas de pacientes con ESQ y sujetos control en el laboratorio N103 de Genética molecular de la UAM Xochimilco, para lo cual

se cuenta con 30 muestras de pacientes y 30 de sujetos control proporcionadas por el Departamento de Genética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez.

OBJETIVO GENERAL

Establecer el método de extracción de RNAm de paquete leucocitario obtenido de muestras sanguíneas de pacientes con esquizofrenia y sujetos control.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Separar el paquete leucocitario de muestras de sangre de paciente y controles.
- Identificar las condiciones óptimas de almacenamiento de paquete leucocitario para promover una buena extracción de RNAm.
- Comparar entre diferentes estuches comerciales y técnicas convencionales para identificar el método adecuado para la extracción de RNAm de paquete leucocitario en el laboratorio de Genética molecular N103 de la UAM-X.
- Realizar la extracción de RNAm de 30 muestras de pacientes y 30 controles con las condiciones establecidas en los objetivos anteriores.
- Cuantificar el RNAm extraído.
- Identificar las condiciones ideales para observar el RNAm extraído en electroforesis en gel de agarosa.

METODOLOGÍA

1. Revisión bibliográfica

La etapa 1 consiste en realizar una revisión bibliográfica en bases de datos como PubMed, NCBI, ResearchGate, durante la cual se recabará información sobre la epidemiología de la ESQ en México, las bases moleculares de la enfermedad relacionadas con el envejecimiento acelerado y la importancia de su estudio. Asimismo, se buscarán los métodos recomendados para la extracción de material genético, en este caso RNAm de paquete leucocitario aislado de muestras de sangre de los pacientes, con la finalidad de sentar las bases teóricas para la etapa experimental.

2. Parte experimental

Su finalidad es establecer experimentalmente el método más adecuado para la extracción de RNAm de paquete leucocitario de muestras sanguíneas de pacientes con ESQ y sujetos control, que permita una obtención de ácido nucleico con concentración, pureza e integridad óptimas para ser utilizado en las siguientes fases del proyecto. Esta fase será desarrollada en el laboratorio de genética molecular N103 de la UAM Xochimilco, aplicando métodos tales como: aislamiento de paquete leucocitario de muestras sanguíneas, extracción de RNAm mediante estuches comerciales y técnicas convencionales, electroforesis en gel de agarosa y cuantificación del ácido nucleico en NanoDrop.

3. Análisis de datos y reporte de resultados.

Finalmente durante la etapa 3 se realizará el análisis correspondiente de los resultados y la elaboración del reporte de resultados, así como una revisión para entregar el informe final de la investigación.

CALENDARIO DE ACTIVIDADES

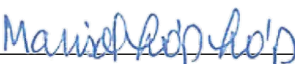
	Actividades	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre
Etapas 1	Planteamiento del protocolo de investigación.	x						


	Recopilación de información mediante revisión bibliográfica.	x	x					
	Realización de antecedentes y marco teórico.		x					
	Planteamiento de condiciones para la fase experimental.			x				
Etapa 2	Desarrollo de la fase experimental (extracción de RNA, determinación de pureza, concentración e integridad).				x	x		
Etapa 3	Análisis de resultados.					x	x	
	Elaboración y entrega del reporte final							x

BIBLIOGRAFÍA

1. Alcántara, M. A., González, A. E., Reyna, M. E. & Velázquez, J. A. (2019) Capítulo 3. Técnicas moleculares y genómicas. *Genética clínica 2ª Ed. El Manual Moderno S.A de C.V.* pp. 151-154
2. Corfdir, C., Pignon, B., Szöke, A., & Schürhoff, F. (2021). Érosion prématurée des télomères et schizophrénies : synthèse et hypothèses. *L'Encéphale*, 47(4), 369–375. <https://doi.org/10.1016/j.encep.2020.12.001>
3. Escamilla, R. I., Becerra, C., Armendáriz, Y., Corlay, I.S., Herrera, M. A., Llamas, R. E., Meneses, S., Quijada, J. M., Reyes, F., Rosado, A., Rosel, M., & Saucedo, E. (2021). Tratamiento de esquizofrenia en México; recomendaciones de un panel de expertos. *Gaceta de México*, 157(94). <https://doi.org/10.24875/gmm.m21000501>
4. Mullegama, S. V., Alberti, M. O., Au, C., Li, Y., Toy, T., Tomasian, V., & Xian, R. R. (2018). Nucleic Acid Extraction from Human Biological Samples. *Methods in Molecular Biology*, 359–383. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_30
5. Rebouças, D. B., Sartori, J. M., Librenza, D., Rabelo, F. D., Massuda, R., Czepielewski, L. S., Passos, I. C., & Gama, C. S. (2021). Accelerated aging signatures in subjects with schizophrenia and their unaffected siblings. *Journal of Psychiatric Research*, 139, 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2021.04.029>
6. Wu, X., Ye, J., Wang, Z., & Zhao, C. (2020). Epigenetic Age Acceleration Was Delayed in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 47(3), 803–811. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbaa164>

Vo. Bo. del (la) o los (las) asesores (as) respecto a los contenidos académicos.


 Dra. Marisol López López
 Profesor Titular C tiempo completo
 7808


 Dr. Alberto Ortega Vázquez
 Profesor Asociado D tiempo completo
 35583