



**UNIVERSIDAD  
AUTÓNOMA  
METROPOLITANA**  
Unidad Xochimilco



**Instituto Nacional de  
Medicina Genómica**  
MÉXICO

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**

Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

**INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA GENÓMICA**

Proyecto específico de investigación

**Análisis de asociación del SNP rs2642438 del gen *MARC1*, con los niveles de transaminasas en adultos mexicanos del estado de Morelos.**

Proyecto genérico

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

Para obtener el título de Licenciada en Química Farmacéutica Biológica

PRESENTA

**Erika Mireya Mandujano Fernández**

---

**Dr. Alberto Ortega Vázquez**

**No. Econ. 35583**  
Asesor interno

---

**Dr. Rafael Velázquez Cruz**

**Cédula. 5647273**  
Asesor externo

Ciudad de México a 04 de noviembre del 2022.

## RESUMEN

La enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD) es un trastorno metabólico que se caracteriza por la acumulación excesiva de lípidos en el citoplasma de los hepatocitos. Estudios recientes han demostrado que su frecuencia es mayor en hombres mayores de 50 años, en mujeres con pre-menopausia y en población de origen mexicano.

Una característica de las personas que presentan NAFLD es la alta frecuencia de comorbilidades metabólicas y estas podrían ejercer una presión creciente sobre los sistemas de atención médica debido a su necesidad de tratamiento. Dentro de las comorbilidades metabólicas, una de las principales enzimas relacionadas con el daño hepático son las transaminasas, enzimas esenciales para la producción de aminoácidos necesarios para la síntesis de proteínas en el hígado. Se relacionan con daño hepático porque si estas son liberadas en el suero se podría producir una lesión hepatocelular o apoptosis.

Aunque se sabe poco sobre los factores genéticos que afectan el desarrollo de NAFLD, recientemente se demostró que la variante sin sentido rs2642438 del gen *MTARC1* (*Mitochondrial amidoxime reducing component 1*) anteriormente conocido como *MARC1*, se asocia con la protección contra enfermedades hepáticas y principalmente cirrosis. La variación genética en *MTARC1* está asociada con bajos niveles de colesterol en la sangre, enzimas hepáticas y grasa hepática reducida, lo que sugiere que la deficiencia de *MTARC1* puede estar asociada con el desarrollo de enfermedades hepáticas. El SNV rs2642438 del gen *MTARC1* es una variante que aumenta las concentraciones de fosfatidilcolinas hepáticas y disminuye la gravedad de NAFLD.

Al saber la importancia de *MTARC1* y su variante rs2642438, el objetivo principal de este estudio fue evaluar la asociación del SNV rs2642438 del gen *MTARC1* con los niveles de transaminasas (ALT y AST), en un estudio de Cohorte de Trabajadores de la Salud, en una población de 1,949 participantes pertenecientes al Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), localizado en Cuernavaca, Morelos.

Los datos demográficos se obtuvieron de un cuestionario auto aplicado. Las dislipidemias se determinaron de acuerdo a los criterios de *Adult Treatment Panel III* (ATP-III). Las determinaciones bioquímicas se obtuvieron mediante una muestra de sangre. La genotipificación del SNV rs2642438, se realizó mediante un ensayo prediseñado TaqMan en un sistema de PCR en tiempo-Real *QuantStudio 7* y posteriormente un análisis estadístico que incluyó equilibrio de *Hardy-Weinberg* (HWE) mediante la prueba de chi-cuadrado entre otros.

Al analizar los resultados de la asociación del SNV rs2642438 del gen *MTARC1* con los niveles de transaminasas en la Cohorte de Trabajadores de Salud del estado de Morelos no se encontró una asociación directa entre estos, pero sí con el perfil lipídico al presentar una asociación de riesgo para hipertrigliceridemia y se puede sugerir que la variante rs2642438 influye en la disfunción endotelial siendo de gran utilidad estos resultados para la predicción a desarrollar enfermedades relacionadas con hígado graso.

## ÍNDICE

1.	ANTECEDENTES	
1.1	Hígado graso no alcohólico (NAFLD)	1
1.2	Diagnóstico clínico de hígado graso no alcohólico	1
1.3	Fisiopatología de hígado graso no alcohólico	2
1.4	Factores de riesgo ambientales	3
1.5	Factores genéticos asociados a hígado graso no alcohólico	3
1.5.1	Asociación del SNV rs2642438 del gen <i>MTARC1</i> con hígado graso no alcohólico	4
2.	JUSTIFICACIÓN	5
3.	OBJETIVOS	6
3.1	Objetivo general	6
3.2	Objetivos específicos	6
4.	HIPÓTESIS	6
5.	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	6
6.	MATERIALES Y MÉTODOS	7
6.1	Población de estudio	7
6.2	Parámetros demográficos	7
6.3	Parámetros bioquímicos	7
6.4	Obtención de muestra biológica y aislamiento de ADN	8
6.5	Genotipificación del SNV rs2642438	8
6.6	Análisis estadístico	8
7.	RESULTADOS	9
7.1	Características demográficas de la población de estudio	9
7.2	Características clínicas de la población de estudio estratificada por sexo y genotipo de la variante rs2642438	10
7.3	Asociación del SNV rs2642438 del gen <i>MTARC1</i> con niveles de transaminasas en la población de estudio	11
7.4	Asociación del SNV rs2642438 del gen <i>MTARC1</i> con el perfil lipídico en la población de estudio	11
8.	DISCUSIÓN	14
9.	CONCLUSIONES	16
10.	ALCANCE DEL ESTUDIO	16
11.	Vo. Bo. De los contenidos académicos	16

12. BIBLIOGRAFÍA	17
13. ANEXOS	

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

<b>Tabla 1.</b>	Enzimas hepáticas para el diagnóstico de hígado graso no alcohólico	2
<b>Figura 1.</b>	Patogénesis de la esteatosis no alcohólica y sus complicaciones	3
<b>Tabla 2.</b>	Algunos genes asociados con la enfermedad de hígado graso no alcohólico	4
<b>Tabla 3.</b>	Estudios del gen <i>MTARC1</i> relacionados con enfermedades hepáticas	4
<b>Tabla 4.</b>	Criterios de selección de individuos de la Cohorte de Trabajadores de la Salud	7
<b>Tabla 5.</b>	Características clínicas y demográficas de la población de estudio estratificada por sexo	9
<b>Tabla 6.</b>	Características de la población de estudio por sexo y genotipo del SNV rs2642438	10
<b>Tabla 7.</b>	Asociación del SNV rs2642438 con niveles de transaminasas en la población de estudio	11
<b>Tabla 8.</b>	Asociación del SNV rs2642438 del gen <i>MTARC1</i> con el perfil lipídico en la población total de estudio	12
<b>Tabla 9.</b>	Asociación entre la variante rs2642438 con el perfil lipídico en la población de estudio	13

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 Hígado graso no alcohólico (NAFLD)

El hígado es un órgano multifuncional de fisiología compleja; entre sus principales funciones está el metabolismo de lípidos, carbohidratos y proteínas, el metabolismo energético y la eliminación de toxinas [1, 2]. La enfermedad por hígado graso no alcohólico (*Non-alcoholic fatty liver disease*, NAFLD, por sus siglas en inglés), es un trastorno metabólico que se caracteriza por la acumulación excesiva de lípidos (ácidos grasos, triglicéridos y colesterol) en el citoplasma de los hepatocitos, asociada con resistencia a la insulina, se presenta principalmente en personas que no tienen un consumo significativo de alcohol, medicamentos hepatotóxicos, u otra causa conocida [3,4].

La NAFLD es una enfermedad crónica frecuente a nivel mundial, con una prevalencia estimada entre el 17 y 46%. Estudios recientes han demostrado que su frecuencia es mayor en hombres que en mujeres, y es altamente frecuente en población mexicana [5]. Su causa es desconocida; sin embargo, se ha asociado con obesidad y diabetes. La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) en 2012, mostró que el 30% de la población mexicana presentaba obesidad y diabetes (37.5% en mujeres y 24.8% en hombres), de los cuales, entre el 50-60% también padecía NAFLD [6,7, 8].

La NAFLD se puede clasificar de dos formas: en hígado graso simple y esteatosis hepática no alcohólica. La primera, se caracteriza por la acumulación excesiva de grasa en el hígado con poca o ninguna inflamación. La segunda, presenta inflamación, acumulación de grasa y daños en el tejido. Este daño puede causar fibrosis o cicatrización hepática; además, puede ser un factor de riesgo para desarrollar otras comorbilidades como cirrosis o cáncer de hígado [9].

### 1.2 Diagnóstico clínico de NAFLD

Las personas con NAFLD comúnmente no presentan síntomas, aunque algunos describen fatiga, náuseas y dolor en el cuadrante superior derecho del abdomen [10]. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), el diagnóstico de NAFLD se realiza mediante un estudio de bioquímica hepática en sangre, estableciendo parámetros de referencia como niveles altos de alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), proteína total, entre otros (**Tabla 1**) [9]. La biopsia hepática es un factor clave para el diagnóstico de NAFLD; sin embargo, existen técnicas como el ultrasonido, tomografía computarizada o resonancia magnética, mediante las cuales se puede confirmar con un alto grado de precisión [10].

Las principales enzimas relacionadas con el daño hepático son las transaminasas o aminotransferasas que son esenciales para la producción de aminoácidos necesarios para la síntesis de proteínas en el hígado. Los niveles altos de estas enzimas en sangre, son marcadores de lesión hepatocelular. En procesos inflamatorios agudos con necrosis de hepatocitos, las enzimas ALT, AST funcionan como marcadores sensibles de lesión hepática [9, 11].

**Tabla 1.** Enzimas hepáticas para el diagnóstico de NAFLD.

Abreviatura	Enzima	Valores de referencia	Función
ALT	Alanina transaminasa	5-40 U/L	Participa en la conversión de proteínas en energía para las células hepáticas.
AST	Aspartato transaminasa	10-40 U/L	Participa en el metabolismo de aminoácidos.
GGT	Gamma-glutamil transferasa	5-80 U/L	Participa en el metabolismo del glutatión y el transporte de aminoácidos.
GPT	Glutamato-piruvato transaminasa	5-40 U/L	Participa en el metabolismo de proteínas.

Valores de referencia sugeridos por *Diagnosing Liver Disease y American Liver Foundation*. 2022 [8]. U/L, Unidades por Litro.

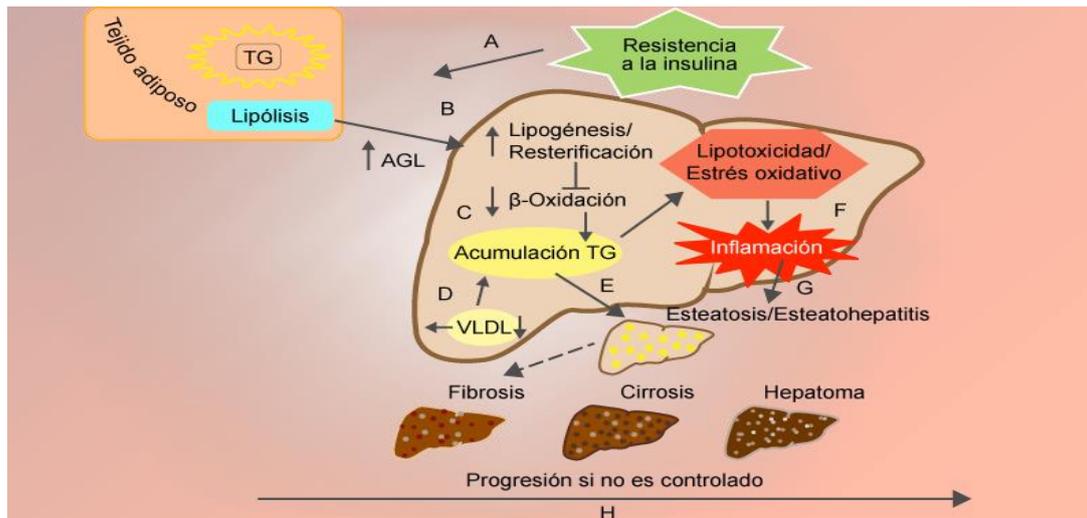
### 1.3 Fisiopatología de NAFLD

La principal característica de NAFLD es la acumulación de triglicéridos en el citoplasma de los hepatocitos. Esto surge de un desequilibrio entre la captación de ácidos grasos y la lipogénesis; es decir, la oxidación y exportación de ácidos grasos mitocondriales hacia las partículas de lipoproteínas de baja densidad (VLDL) [9].

La fisiopatología del NAFLD es un proceso de dos etapas. Inicialmente se presenta un aumento de lipólisis periférica en individuos con resistencia a la insulina, lo que produce un incremento de ácidos grasos libres, que, al ser captados por el hepatocito, aumenta los niveles de triglicéridos en el citoplasma y produce esteatosis de macrovacuola con desplazamiento del núcleo a la periferia [12]. La resistencia a la insulina provoca un cambio metabólico aumentando la lipólisis en el tejido adiposo, lo cual genera un mayor flujo de ácidos grasos libres hacia el hígado. Esto provoca un aumento en la reesterificación de ácidos grasos y en la lipogénesis hepática. También existe un decremento en la oxidación de ácidos grasos y una disminución en la exportación de VLDL [13].

En la segunda etapa, hay toxicidad por acumulación de lípidos, que induce una respuesta de estrés oxidativo en el hígado, y desencadena procesos inflamatorios. El estrés oxidativo origina la liberación de catepsinas lisosomales, la disfunción mitocondrial, el estrés del retículo endoplásmico y la apoptosis celular; produciendo así la inflamación que activa a las células estrelladas (células de Ito o adipocitos hepáticos) y el depósito de colágeno en los sinusoides hepáticos, siendo muy variable la posibilidad del hígado de recuperarse de este daño. Esto puede resultar en muerte celular necrótica, apoptosis y conducir a esteatohepatitis y, posteriormente, a fibrosis. Lo cual a su vez predispone a la aparición de cirrosis y en muchos casos puede derivar a hepatocarcinoma [13].

El incremento de los ácidos grasos libres en el hepatocito desencadena mecanismos de estrés oxidativo (aumento de hierro, activación de citocromo P450, aumento de  $\beta$ - oxidación mitocondrial, estimulación de lipo-oxigenasa y factor de necrosis tumoral). Este incremento llevará a la activación de factores pro inflamatorios y de necrosis celular, y activará las células estrelladas que son precursoras de fibrosis hepatocitaria (**Figura 1**) [12, 14].



**Figura 1.** Patogénesis de esteatosis no alcohólica y sus complicaciones. A) Incremento de la lipólisis por resistencia a la insulina. B) Aumento el flujo de ácidos grasos libres (AGL) hacia el hígado. C) El incremento de la lipogénesis y la reesterificación reduce la oxidación de los ácidos grasos y D) Acumulación de triglicéridos (TG). E) Generación de esteatosis hepática no alcohólica por acumulación excesiva de TG, F) Lipotoxicidad y estrés oxidativo. G) Exacerbación de inflamación crónica, H) Progresión a fibrosis, cirrosis y cáncer hepático. Imagen tomada de Aguilera-Méndez, 2017. [14].

#### 1.4 Factores de riesgo ambientales

No se conoce con certeza la causa de NAFLD; sin embargo, estudios epidemiológicos han sugerido que esta enfermedad es multifactorial, depende de múltiples factores genéticos como se menciona más adelante y factores ambientales como en personas que padecen diabetes tipo 2, obesidad, resistencia a la insulina, dislipidemias o en personas con hepatitis C [9]. Además, el desarrollo de esta enfermedad, está relacionada con las dietas hipercalóricas, mayor ingesta de ácidos grasos saturados y ácidos grasos poliinsaturados [15].

#### 1.5 Factores genéticos asociados a NAFLD

Los factores genéticos que desencadenan el desarrollo o la progresión de NAFLD juegan un papel importante. La heredabilidad de la enfermedad ha sido demostrada en estudios entre familias y gemelos, revelando una amplia variabilidad inter-étnica e inter-individual [13]. Previos estudios (**Tabla 2**) han determinado que NAFLD se presenta en personas portadoras de genes asociados a daño hepático como *PNPLA3*, *TM6SF2* y *MBOAT7*, demostrando que aumentan su heredabilidad hasta un 27% [16,17].

**Tabla 2.** Algunos genes asociados con la enfermedad NAFLD.

Gen	n pacientes	Resultados	Valor de p	Referencia
<i>TM6SF2</i>	361	Asociación con un efecto sobre las probabilidades de desarrollar NAFLD.	p= 0.029	[ 18]
	515	Asociación con un aumento de AST y ALT.	p = 0,011	[19]
	120	Asociación con la oxidación de nutrimentos, glucosa y niveles lipídicos.	P= 0.006	[20]
<i>PNPLA3</i>	515	Mostraron un aumento en las enzimas AST y ALT. El gen se relacionó con alto grado de esteatosis.	p= 0,002	[19]
<i>TM6AF E167K</i>	3260	El gen asociado con la esteatosis y alteraciones lipídicas.	p= 0,03	[21]
<i>FGF-21</i>	Prueba en ratones	Relación de daño hepático crónico, sobretodo en la acumulación de grasa en hígado y aumento de triglicéridos.	P < 0.05	[22]

AST: aspartato aminotransferasa; ALT: alanina aminotransferasa; Se consideró estadísticamente significativo  $P < 0.05$ .

### 1.5.1 Asociación del SNV rs2642438 del gen *MTARC1* con NAFLD

El gen *MTARC1*, también conocido como *MARC1*, está localizado en el *locus* 1q41 del cromosoma 1. Este gen codifica el Componente Reductor de Amidoxima Mitocondrial 1 que se encuentra en la membrana mitocondrial externa [16,21]. En la **Tabla 3** se muestran algunos de los estudios con la variación genética en *MTARC1* asociada con bajos niveles de colesterol en la sangre, enzimas hepáticas, grasa hepática reducida y protección contra cirrosis, lo que sugiere que la deficiencia de *MTARC1* puede estar asociada con el desarrollo de enfermedades hepáticas [16].

**Tabla 3.** Estudios del gen *MTARC1* relacionados con enfermedades hepáticas.

Gen	N pacientes	Resultados	Referencia
<i>MTARC1</i>	3,754	Presentaron niveles bajos de colesterol en la sangre, niveles bajos de enzimas hepáticas y grasa hepática.	[13]
	1,252	Protege de la mortalidad relacionada con el hígado de una manera dependiente de la presencia del alelo de protección. Por cada alelo menor rs2642438, el riesgo de desarrollo de NAFLD se redujo hasta en un 15 %.	[23]
	1,450	El alelo menor rs2642438G>A en <i>MTARC1</i> se asoció con un menor grado de esteatosis hepática. Este gen está asociado con NAFLD pediátrica menos grave.	[24]

El SNV rs2642438 es una variante missense; es decir, es un cambio puntual de un solo nucleótido, en un codón que codifica para un aminoácido diferente. A cada posible variación se le denomina alelo, en este SNV los alelos que puede presentar son A/G, de acuerdo con lo reportado en la base de datos de 1000 Genomas. Esta variante aumenta las concentraciones de fosfatidilcolinas hepáticas y disminuye la gravedad de NAFLD [25].

## 2. JUSTIFICACIÓN

La NAFLD es una de las principales causas de enfermedad hepática crónica, con una prevalencia global estimada del 24 % [26]. NAFLD es la acumulación de exceso de grasa en el hígado, sin una causa secundaria aparente (por ejemplo, consumo significativo de alcohol, uso de medicamentos esteatogénicos o trastornos genéticos) [27]. La NAFLD varía desde la esteatosis hepática simple hasta la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), caracterizada por inflamación hepática y lesión hepatocelular. NAFLD y NASH pueden progresar a cirrosis y carcinoma hepatocelular (CHC) [14, 28]. Por otro lado, la ALT y la AST son enzimas hepáticas comunes, que podrían liberarse en el suero si se produjera lesión hepatocelular o apoptosis. Sin embargo, la ALT es un marcador más específico del hígado que la AST, ya que la AST está ampliamente distribuida no solo en los hepatocitos, sino también en el músculo esquelético, el corazón, los riñones, etc. [29]. De hecho, la ALT se ha considerado a nivel mundial como un biomarcador fiable de la enfermedad hepática. Los estudios han sugerido que incluso una elevación sérica leve de ALT también puede indicar la existencia de daño hepático [30, 31]. La actividad de estas transaminasas es reflejo de la actividad metabólica en los tejidos en los cuales se expresan, y representan la relación importante entre el metabolismo de carbohidratos y proteínas [32].

El mecanismo bioquímico de NAFLD es complejo e incluye acúmulo de triglicéridos, resistencia a insulina, desregulación del metabolismo de lípidos, estrés oxidativo por disfunción mitocondrial y per-oxidación lipídica, así como disfunción de respuesta inmune innata. Estos procesos se encuentran asociados con múltiples polimorfismos en genes, es por eso que, la genética puede ser un determinante de riesgo y severidad del desarrollo de NAFLD [33].

En un estudio reciente de asociación del exoma, Emdin et al. Identificaron a la variante rs2642438 en el gen *MTARC1*, como un factor de riesgo para la NAFLD y cirrosis [13].

Predecir qué individuos progresan de NAFLD a una enfermedad hepática más avanzada sigue siendo difícil de evaluar, y encontrar marcadores pronósticos sigue siendo un objetivo importante. Por lo tanto, la identificación de biomarcadores clave que podrían mejorar la detección no invasiva de NAFLD y el desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento que reduzcan la incidencia y la mortalidad de la enfermedad hepática crónica sería un gran beneficio para la salud pública.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la asociación del SNV rs2642438 del gen *MTARC1* con los niveles de transaminasas (ALT y AST), en un estudio de cohorte de trabajadores de la salud.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar si los niveles de transaminasas son afectados por los genotipos del SNV rs2642438 del gen *MTARC1*, en adultos Trabajadores de la Salud.
- Evaluar si el SNV rs2642438 del gen *MTARC1* se asocia con el perfil lipídico en la población de estudio.

### **4. HIPÓTESIS**

La variante rs2642438 del gen *MTARC1* está asociado con menor riesgo de presentar niveles elevados de transaminasas (ALT/AST) en adultos mexicanos del estado de Morelos.

### **5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Existe asociación entre la variante rs2642438 del gen *MTARC1* con los niveles de transaminasas y el perfil de lípidos en plasma en adultos mexicanos?

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

Este proyecto fue aprobado por el Comité de Ética, investigación y Bioseguridad del INMEGEN y el Comité de Ética e Investigación del IMSS (N° 12CEI 09 006 14). Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito antes de su inclusión. El estudio se realizó de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki.

### 6.1 Población de estudio

Este proyecto se desarrolló con datos provenientes de 1,949 individuos pertenecientes al estudio de "Cohorte en Trabajadores de la Salud (CTS)." La CTS consiste en médicos, académicos, administrativos y sus familiares, pertenecientes al Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), localizado en Cuernavaca, Morelos. El objetivo de esta cohorte se enfoca en el análisis de la asociación entre factores genéticos y el estilo de vida. Los detalles de esta población han sido descritos previamente [34]. Los datos incluidos en este proyecto provienen del segundo periodo de recolección de muestras (2010-2012) y de individuos con muestra de DNA disponible. Los criterios de selección para los participantes de este estudio se muestran en la **Tabla 4**.

**Tabla 4.** Criterios de selección de individuos de la Cohorte de Trabajadores de la Salud.

Inclusión	Exclusión	Eliminación
Individuos: <ul style="list-style-type: none"><li>• Mayores de edad (&gt;18 años).</li><li>• Con datos clínicos y demográficos completos.</li><li>• Con muestra de DNA y suero disponible.</li><li>• Que hayan firmado el consentimiento informado.</li></ul>	Individuos: <ul style="list-style-type: none"><li>• Que no cuenten con datos clínicos y demográficos completos.</li><li>• Con datos del genotipo faltante.</li><li>• Que no hayan firmado el consentimiento informado.</li></ul>	Individuos: <ul style="list-style-type: none"><li>• Que decidan retirarse del estudio.</li></ul>

### 6.2 Parámetros demográficos

Los datos demográficos se obtuvieron de un cuestionario auto aplicado que incluyó datos sobre el estado de actividad física, alcoholismo, dieta, índice de masa corporal (IMC), entre otros [34].

### 6.3 Parámetros bioquímicos

Las dislipidemias se determinaron de acuerdo a los criterios de *Adult Treatment Panel III* (ATP-III) [12]. Hipercolesterolemia  $\geq 200$  mg/dL; hipertrigliceridemia  $\geq 150$  mg/dL, HDL-c bajo  $< 40$  mg/dL para hombres y  $> 50$  mg/dL para mujeres; niveles elevados de LDL-c  $> 100$  mg/dL. Las enzimas hepáticas ALT y AST fueron cuantificadas utilizando una prueba comercial y fueron considerados normales los valores  $< 40$  U/L [35, 36].

#### **6.4 Obtención de muestra biológica y aislamiento de ADN**

Para las determinaciones bioquímicas se obtuvo una muestra de sangre periférica de cada individuo después de un periodo de ayuno de 8 h. Se determinaron los niveles de glucosa, triglicéridos y colesterol total en sangre. Los niveles de glucosa se evaluaron con el método de glucosa oxidada. Los triglicéridos por método colorimétrico tras la técnica de hidrólisis enzimática con lipasas y el colesterol unido a HDL-c por eliminación de quilomicrones y posterior catalasa. Estos procedimientos de laboratorio se estandarizaron de acuerdo con la Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio [36]. El ADN se extrajo de la sangre periférica utilizando el kit PUREGENE QIAGEN de acuerdo con las instrucciones del fabricante (**Anexo A**).

#### **6.5 Genotipificación del SNV rs2642438**

La genotipificación del SNV rs2642438 (C\_\_1235772\_10), se realizó mediante un ensayo prediseñado TaqMan SNV *Genotyping* (Applied Biosystems, Massachusetts, MA, EE. UU.). En un sistema de PCR en tiempo-Real QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR (Applied Biosystems, Massachusetts, MA, EE. UU.) (**Anexo B y C**). La asignación de los genotipos de las variantes genéticas se realizó mediante el software SDS versión 2.2.1.

#### **6.6 Análisis estadístico**

Para el análisis descriptivo se estratificó a la población por sexo y genotipo del SNV rs2642438. Las variables sociodemográficas y bioquímicas continuas se presentaron como medianas y rango intercuartílico (percentil 25-75). Las variables categóricas se presentaron como porcentajes. Para investigar las diferencias en las características de los participantes, comparamos las variables continuas mediante la prueba ANOVA y las variables categóricas mediante pruebas de chi-cuadrada. Evaluamos la asociación entre el SNV rs2642438 con los niveles de las enzimas hepáticas (ALT/AST) y con cada parámetro lipídico (triglicéridos, colesterol total, LDL-c y HDL-c) mediante modelos lineales. Para estimar la asociación entre la variante genética, calculamos los *odds ratio* (OR) e intervalos de confianza (IC) del 95% con un modelo de regresión logística multinomial. El análisis de asociación se ajustó por posibles variables confusoras como la edad, el sexo, el IMC, la actividad física, el consumo de alcohol y el tabaquismo. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software estadístico STATA versión 14.0 (StataCorp LP, College Station, TX, EE. UU.). Se consideró un valor significativo de  $P < 0.05$ .

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Características demográficas de la población de estudio

Este estudio incluyó 1,949 pacientes, de los cuales 579 fueron hombres (30%). Las características clínicas y demográficas estratificadas por sexo, mostraron que los hombres presentaron mayor sobrepeso, niveles de enzimas hepáticas (ALT/AST), niveles de triglicéridos e ingesta energética de la dieta, en comparación con las mujeres. Sin embargo, las mujeres presentaron mayor obesidad, niveles de colesterol total, HDL-c y LDL-c, a diferencia de los hombres ( $p < 0.05$ ) (**Tabla 5**).

**Tabla 5.** Características clínicas y demográficas de la población de estudio estratificada por sexo (n=1,900).

Características	Hombres n=579	Mujeres n=1,321	Valor P
Edad (años) <sup>a</sup>	46.3	52.3	<0.001
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	26.6(24.3-29.2)	26.9(24.1-30.3)	0.115
Sobrepeso %	48.7	40.4	0.0008
Obesidad %	19.9	26.3	0.0028
Act. física (horas/semana)%	1.7(0.4-5)	1.1(0.2-3.5)	<0.001
Fumador actual %	20.9	8.9	<0.001
ALT (U/L) <sup>a</sup>	25(19-35)	20(15-29)	<0.001
AST (U/L) <sup>a</sup>	25(21-31)	23(20-30)	0.0001
Colesterol total (mg/dL) <sup>b</sup>	192(168-222)	199(172-226)	0.0003
HDL-c (mg/dL) <sup>a</sup>	39(34-46)	46(39-54)	<0.001
HDL-c bajo % <sup>c</sup>	51.8	64.0	<0.001
LDL-c (mg/dL) <sup>a</sup>	115(96-144)	121(99-146)	0.007
LDL-c alto % <sup>d</sup>	70.5	74.2	0.094
Triglicéridos (mg/dL) <sup>a</sup>	168(119-245)	150(109-201)	<0.0001
Tto. hipolipemiente%	11.5	13.9	0.154
<b>Dieta</b>			
Ingesta energética (kcal/día) <sup>a</sup>	1936(1457-2549)	1687(1242-2221)	<0.001
Carbohidratos (% energía) <sup>a</sup>	64.6(58.1-70.5)	66.5(60.6-71.8)	<0.001
Proteína (% energía) <sup>a</sup>	12.3(10.6-14.1)	12.5(11.0-14.3)	0.061
MUFAs (% energía) <sup>a</sup>	8.4(6.8-10.5)	8.6(7.0-10.4)	0.210
PUFAs (% energía) <sup>a</sup>	1.8(1.5-2.2)	1.9(1.6-2.2)	0.199
Alcohol (g/día) <sup>a</sup>	2.8(0.6-7.5)	0.6(0-1.8)	<0.001

Abreviaturas: Índice de Masa Corporal (IMC); Lipoproteína de Alta Densidad (HDL-c); Lipoproteína de Baja Densidad (LDL-c); Alanina Aminotransferasa (ALT); Aspartato Aminotransferasa (AST); Ácidos grasos Monoinsaturados (MUFA); Ácidos Grasos Poliinsaturados (PUFA). Se utilizó la prueba U Mann Whitney. Se consideró estadísticamente significativo  $P < 0.05$ , <sup>a</sup> Mediana (P25-P75); <sup>b</sup> Colesterol total alto  $\geq 200$  mg/dL; <sup>c</sup> HDL-c bajo  $\leq 40$  mg/dL para hombres y  $\leq 50$  mg/dL para mujeres; <sup>d</sup> LDL-c alto  $\geq 100$  mg/dL triglicéridos altos  $\geq 150$  mg/dL.

## 7.2 Características clínicas de la población de estudio estratificada por sexo y genotipo de la variante rs2642438

Cuando estratificamos los datos demográficos por sexo y genotipo de la variante rs2642438, observamos que los hombres con al menos un alelo rs2642438-A, presentaron mayor porcentaje de sobrepeso (sin diferencia significativa), y niveles altos de triglicéridos ( $p>0.053$ ) comparados con los hombres no portadores. Los niveles de las enzimas hepáticas ALT y AST y del perfil de lípidos no variaron entre portadores y no portadores de la variante, y se encontraron dentro de los parámetros normales establecidos por la OMS y ATP-III [26,33]. En mujeres solo se observó que los niveles de colesterol se encuentran en el límite los parámetros establecidos por la OMS y ATP-III ( $p>0.032$ ) y una ingesta de alcohol significativa ( $p>0.014$ ) (Tabla 6).

En la población total, se observó la frecuencia de alelo menor del SNV rs2642438 en un 17%. El SNV rs2642438 estuvo en equilibrio HWE ( $p>0.05$ ).

**Tabla 6.** Características de la población de estudio por sexo y genotipo del SNV rs2642438 (n=1,949).

Característica	Hombres, n=592			Mujeres, n=1,357		
	GG n=414	GA+AA n=178	P*	GG n=903	GA+AA n=454	P*
Edad (años) <sup>a</sup>	46	46	0.715	54	53	0.984
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	26.5	26.6	0.795	26.9	26.7	0.706
Sobrepeso %	46.9	53.4	0.147	40.1	41.6	0.600
Obesidad %	20.5	18.0	0.484	26.0	26.0	1.000
Actividad física (hr/sem) <sup>a</sup>	1.7	1.7	0.371	0.9	1.1	0.315
Fumador %	20.6	23.0	0.513	9.8	7.8	0.228
ALT (U/L) <sup>a</sup>	25	25	0.979	21	20	0.544
AST (U/L) <sup>a</sup>	24	25	0.688	24	23	0.123
Colesterol (mg/dL) <sup>b</sup>	191	192	0.718	200	196	0.032
	(166-223)	(171-217)		(175-231)	(170-223)	
HDL-c (mg/dL) <sup>c</sup>	40	39	0.127	46	46	0.836
	(34-46)	(34-44)		(39-54)	(39-54)	
LDL-c (mg/dL) <sup>d</sup>	115	116	0.875	122	119	0.143
	(95-145)	(100-138)		(100-149)	(99-143)	
Triglicéridos (mg/dL) <sup>e</sup>	164	177	0.053	152	149	0.370
	(116-234)	(128-277)		(110-204)	(107-197)	
<b>Dieta</b>						
Ingesta energética (kcal/día) <sup>a</sup>	1934	1987	0.913	1698	1671	0.435
Carbohidratos (g/día) <sup>a</sup>	64.7	63.7	0.232	66.8	66.1	0.121
	(58.4-70.3)	(57.3-70.6)		(60.6-72.6)	(60.6-70.4)	
Proteínas (g/día) <sup>a</sup>	12.4	12.3	0.940	12.5	12.4	0.443
	(10.6-14.1)	(10.5-14.1)		(10.9-14.2)	(10.9-14.2)	
MUFAs (g/día) <sup>a</sup>	8.5	8.9	0.572	8.5	8.8	0.037
	(6.8-10.2)	(6.9-10.5)		(6.9-10.3)	(7.4-10.5)	
PUFAs (g/día) <sup>a</sup>	1.8	1.8	0.856	1.8	1.9	0.066
	(1.5-2.2)	(1.5-2.2)		(1.6-2.2)	(1.6-2.3)	
Alcohol (g/día) <sup>a</sup>	2.7	3.1	0.306	0.6	0.8	0.014
	(0.4-7.5)	(0.8-7.6)		(0-1.7)	(0.04-2.2)	

Abreviaturas: Índice de Masa Corporal (IMC); Lipoproteína de Alta Densidad (HDL-c); Lipoproteína de Baja Densidad (LDL-c); Alanina Aminotransferasa (ALT); Aspartato Aminotransferasa (AST); Ácidos grasos Monoinsaturados (MUFA); Ácidos Grasos Poliinsaturados (PUFA). Se utilizó la prueba U Mann-Whitney. Se consideró estadísticamente significativo  $P < 0.05$ , <sup>a</sup> Mediana (P25-P75); <sup>b</sup> Colesterol total alto  $\geq 200$  mg/dL; <sup>c</sup> HDL-c bajo  $\leq 40$  mg/dL para hombres y  $\leq 50$  mg/dL para mujeres; <sup>d</sup> LDL-c alto  $\geq 100$  mg/dL <sup>e</sup> triglicéridos altos  $\geq 150$  mg/dL.

### 7.3 Asociación del SNV rs2642438 del gen *MTARC1* con niveles de transaminasas en la población de estudio.

Se analizó la asociación entre el alelo A de la variante rs2642438 con los niveles de transaminasas (AST y ALT) en la población, estratificada por sexo. Nuestros resultados no mostraron asociación significativa en hombres y mujeres (**Tabla 7**).

**Tabla 7.** Asociación del SNV rs2642438 con niveles de transaminasas en la población de estudio (n=1,949).

Modelo	Hombres		Mujeres		Hombres		Mujeres	
	AST $\beta$ (IC 95%)	ALT $\beta$ (IC 95%)	AST $\beta$ (IC 95%)	ALT $\beta$ (IC 95%)	AST* OR (IC 95%)	ALT* OR (IC 95%)	AST* OR (IC 95%)	ALT* OR (IC 95%)
Aditivo	0.003 (-0.05,0.06)	0.01 (-0.06,0.08)	-0.03 (-0.06,0.10)	-0.02 (-0.07,0.03)	1.47 (0.88-2.43)	1.07 (0.69-1.65)	0.79 (0.54-1.17)	0.77 (0.53-1.12)
Valor <i>p</i>	0.910	0.748	0.161	0.479	0.137	0.777	0.239	0.176
Codominante GG**								
GA	-0.01 (-0.08,0.05)	-0.002(- 0.08,0.08)	-0.02 (-0.06,0.03)	-0.02 (-0.08,0.03)	1.59 (0.86-2.93)	0.94 (0.56-1.60)	0.85 (0.56-1.30)	0.78 (0.51-1.17)
Valor <i>p</i>	0.678	0.965	0.433	0.402	0.139	0.827	0.451	0.230
AA	0.09 (-0.10,0.28)	0.09 (-0.16,0.34)	-0.10 (-0.22,0.03)	-0.005 (-0.17,0.16)	1.66 (0.34-8.15)	1.78 (0.47-6.75)	0.33 (0.04,2.48)	0.59 (0.13-2.56)
Valor <i>p</i>	0.364	0.476	0.129	0.953	0.534	0.827	0.279	0.477
Recesivo GG+GA**								
AA	0.09 (-0.10,0.28)	0.09 (- 0.16,0.34)	-0.09 (-0.22,0.03)	0.003 (-0.16,0.17)	1.44 (0.30-7.00)	1.81 (0.48-6.81)	0.34 (0.05-2.59)	0.63 (0.15-2.74)
Valor <i>p</i>	0.342	0.471	0.150	0.973	0.651	0.380	0.324	0.539
Dominante GG**								
GA+AA	-0.006 (-0.07,0.06)	0.005(- 0.08,0.09)	-0.02 (-0.07,0.02)	-0.02 (-0.08,0.03)	1.59 (0.88-2.88)	1.00 (0.61-1.66)	0.81 (0.53-1.24)	0.76 (0.51-1.14)
Valor <i>p</i>	0.857	0.899	0.274	0.419	0.124	0.989	0.332	0.190

Modelos ajustados por edad, índice de masa corporal, hipolipemiantes, actividad física, estatus de fumador, consumo de energía y alcohol. Alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST); Se consideró estadísticamente significativo  $P < 0.05$ ; \* Niveles elevados de aminotransferasas ( $>40$ ); \*\*Genotipo de referencia.

### 7.4 Asociación del SNV rs2642438 del gen *MTARC1* con el perfil lipídico en la población de estudio

En el grupo de hombres se observó una asociación significativa entre el alelo A del SNV rs2642438 con los niveles altos de triglicéridos bajo el modelo de herencia aditivo (OR=1.57, IC 95%=1.10-2.24,  $p=0.013$ ) y dominante (OR=1.54, IC 95%=1.04-2.28,  $p=0.030$ ). En el modelo codominante y recesivo solo se observó una tendencia de riesgo para niveles altos de triglicéridos, aunque sin diferencia significativa. En el grupo de mujeres no se observó asociación significativa con ningún parámetro lipídico (**Tabla 8**).

**Tabla 8.** Asociación del SNV rs2642438 del gen *MTARC1* con el perfil lipídico en la población total de estudio (n=1,949).

Modelo	Hombres				Mujeres			
	Colesterol total alto <sup>a</sup> OR	HDL-c bajo <sup>b</sup> OR	TG altos <sup>c</sup> OR	LDL-c bajo <sup>d</sup> OR	Colesterol total alto <sup>a</sup> OR	HDL-c bajo <sup>b</sup> OR	TG altos <sup>c</sup> OR	LDL-c bajo <sup>d</sup> OR
	(IC 95%)	(IC 95%)	(IC 95%)	(IC 95%)	(IC 95%)	(IC 95%)	(IC 95%)	(IC 95%)
Aditivo	0.86 (0.62-1.21)	1.26 (0.90-1.75)	1.57 (1.10-2.24)	1.37 (0.94-1.98)	0.90 (0.73-1.13)	0.96 (0.77-1.20)	0.96 (0.77-1.19)	1.03 (0.80-1.31)
Valor <i>p</i>	0.390	0.181	0.013	0.101	0.388	0.721	0.716	0.840
Codominante								
GG*								
AG	0.83 (0.57-1.23)	1.24 (0.85-1.83)	1.44 (0.96-2.14)	1.41 (0.92-2.15)	0.89 (0.69-1.14)	0.97 (0.74-1.25)	0.94 (0.73-1.20)	1.01 (0.76-1.34)
Valor <i>p</i>	0.357	0.263	0.075	0.114	0.352	0.792	0.611	0.932
AA	0.89 (0.28-2.84)	1.65 (0.51-5.31)	4.58 (0.95-22.03)	1.57 (0.42-5.89)	0.92 (0.45-1.91)	0.90 (0.42-1.90)	1.04 (0.49-2.18)	1.11 (0.49-2.51)
Valor <i>p</i>	0.838	0.263	0.057	0.503	0.831	0.776	0.920	0.795
Recesivo								
GG+GA*								
AA	0.93 (0.29-2.96)	1.55 (0.48-4.98)	4.16 (0.87-19.9)	1.44 (0.38-5.36)	0.96 (0.47-1.97)	0.91 (0.43-1.91)	1.06 (0.51-2.22)	1.11 (0.49-2.49)
Valor <i>p</i>	0.903	0.461	0.075	0.590	0.910	0.797	0.876	0.801
Dominante								
GG*								
GA+AA	0.84 (0.58-1.22)	1.27 (0.88-1.85)	1.54 (1.04-2.28)	1.42 (0.94-2.14)	0.89 (0.70-1.13)	0.96 (0.75-1.24)	0.94 (0.74-1.21)	1.02 (0.77-1.34)
Valor <i>p</i>	0.355	0.207	0.030	0.096	0.351	0.753	0.645	0.887

Modelos ajustados por edad, índice de masa corporal, hipolipemiantes, actividad física, estatus de fumador, consumo de energía y alcohol. Se consideró estadísticamente significativo  $P < 0.05$ ; <sup>a</sup>Colesterol total alto  $\geq 200$  mg/dL; <sup>b</sup>HDL-c bajo  $\leq 40$  mg/dL para hombres y  $\leq 50$  mg/dL para mujeres; <sup>c</sup>LDL-c alto  $\geq 100$  mg/dL <sup>d</sup>triglicéridos altos  $\geq 150$  mg/dL; \*Genotipo de referencia.

El análisis cuantitativo corroboró la asociación significativa entre el alelo A de la variante rs2642438 con los niveles de triglicéridos en hombres, bajo el modelo aditivo ( $\beta=0.10$ , IC95%= 0.02, 0.18,  $p=0.015$ ), codominante ( $\beta=0.37$ , IC 95%= -0.08,0.65,  $p=0.011$ ) y recesivo ( $\beta= 0.35$ , IC 95%= 0.07, 0,63,  $p=0.015$ ). En las mujeres solo se encontró una asociación significativa de colesterol bajo el modelo aditivo ( $\beta= -0.02$ , IC 95%= -0.04,-0.002,  $p=0.034$ ) (Tabla 9).

**Tabla 9.** Asociación entre la variante rs2642438 con el perfil lipídico en la población de estudio

Modelo	Hombres					
	Colesterol total <sup>a</sup> $\beta$ (IC 95%)	HDL-c <sup>b</sup> $\beta$ (IC 95%)	Triglicéridos <sup>c</sup> $\beta$ (IC 95%)	LDL-c <sup>d</sup> $\beta$ (IC 95%)	Colesterol total <sup>a</sup> $\beta$ (IC 95%)	HDL-c <sup>b</sup> $\beta$ (IC 95%)
Aditivo	0.005 (-0.03,0.04)	-0.03 (-0.07,0.003)	0.10 (0.02,0.18)	0.002 (-0.04,0.05)	-0.02 (-0.04,-0.002)	0.004 (-0.02,0.03)
Valor <i>p</i>	0.779	0.074	0.015	0.941	0.034	0.731
Codominante GG*						
GA	-0.003 (-0.04,0.032)	-0.03 (-0.07,0.008)	0.07 (-0.03,0.16)	-0.0006(- 0.052,0.051)	-0.02 (-0.04,0.003)	0.0007(- 0.03,0.03)
Valor <i>p</i>	0.846	0.121	0.160	0.981	0.087	0.963
AA	0.05 (-0.06,0.16)	-0.06 (-0.18,0.06)	0.37 (0.08,0.65)	0.01 (-0.14,0.17)	-0.05 (-0.12,0.02)	0.03 (-0.06,0.11)
Valor <i>p</i>	0.378	0.309	0.011	0.854	0.147	0.545
Recesivo GA+AA*						
AA	0.05 (-0.06,0.16)	-0.05 (-0.17,0.07)	0.35 (0.07,0.63)	0.01 (-0.14,0.17)	-0.04 (-0.11,0.02)	0.03 (-0.06,0.11)
Valor <i>p</i>	0.366	0.379	0.015	0.852	0.204	0.546
Dominante GG*						
GA+AA	0.0004 (-0.04,0.04)	-0.03 (-0.07,0.004)	0.09 (-0.001,0.18)	0.0006(- 0.05,0.05)	-0.02 (-0.05,0.00005)	0.002 (-0.02,0.03)
Valor <i>p</i>	0.982	0.086	0.054	0.983	0.050	0.854

Modelos ajustados por edad, índice de masa corporal, hipolipemiantes, actividad física, estatus de fumador, consumo de energía. \*Genotipo de referencia.

## 8.DISCUSIÓN

De acuerdo con datos epidemiológicos, la población mexicana tiene una alta susceptibilidad de desarrollar enfermedades hepáticas, las cuales se asocian con la presencia de dislipidemias y otros trastornos metabólicos [37]. Los niveles elevados de transaminasas como la AST y ALT, se han establecido como parámetros de referencia para el diagnóstico de complicaciones hepáticas [38, 39]. Los factores genéticos juegan un papel importante en la susceptibilidad de desarrollar estas alteraciones, con diferencias significativas entre hombres y mujeres [36]. Por lo tanto, estudiar variantes genéticas asociadas al metabolismo hepático y al perfil lipídico en suero, podría ayudar a identificar nuevos objetivos terapéuticos para pacientes que están en riesgo de desarrollar estas complicaciones. En este proyecto se analizó la asociación de la variante rs2642438 del gen *MTARC1* con los niveles de transaminasas en un estudio de cohorte de adultos mexicanos del estado de Morelos.

En nuestra población de estudio, observamos una alta incidencia de sobrepeso y obesidad combinada con hábitos poco saludables, como la baja actividad física, el tabaquismo, y una alta ingesta de energía, principalmente en hombres. De acuerdo con los reportes de ENSANUT 2012, estos factores predisponen a padecer alteraciones hepáticas y otras alteraciones metabólicas como la diabetes tipo 2 o el síndrome metabólico [13, 34].

Debido a que los factores genéticos juegan un papel determinante en su aparición, se ha demostrado que las variantes genéticas están estrechamente asociadas con el metabolismo hepático, y algunas de ellas son relevantes en la población mexicana [13]. En este sentido, la frecuencia del alelo menor A de la variante rs2642438 del gen *MTARC1* en la población de estudio fue del 17%, ligeramente menor a lo reportado por la base de datos de 1000 Genomas para la población con ancestría mexicana que radica en los Ángeles California (26%). La presencia del alelo A de la variante rs2642438 varía alrededor del mundo, desde el 5% en población africana hasta el 28% en población europea.

Nuestros resultados mostraron que la variante rs2642438 del gen *MTARC1* no está asociada con los niveles de enzimas hepáticas en la cohorte de estudio. Un estudio realizado por Shaheen, et, al. fue similar a lo obtenido para esta población donde el aumento de las probabilidades de NAFLD observado en los mexicoamericanos y el aumento de los niveles de ALT solo se presentaron en los hombres, así como los aumentos en las probabilidades observados para niveles bajos de HDL y niveles altos de AST se observaron solo en mujeres [36]. Esta falta de asociación podría deberse a que la incidencia de enfermedades hepáticas es más frecuente en personas mayores de 55 años, mientras que el promedio de edad de nuestra población es de 50 años. Así como mayor incidencia en el género masculino; sin embargo, el tamaño de muestra de hombres en nuestro estudio, podría ser insuficiente para captar el efecto de la variante [13, 36].

Al observar el SNV rs2642438 del gen *MTARC1* con el perfil lipídico en hombres se observó una asociación con los niveles altos de triglicéridos bajo el modelo de herencia aditivo y dominante mostrando un mayor riesgo de asociación de esta variante con el perfil lipídico. Mientras que el análisis cuantitativo corroboró la asociación significativa entre el alelo A de la variante rs2642438 con los niveles de triglicéridos en hombres, bajo el modelo aditivo, codominante y recesivo. En las mujeres solo se encontró una asociación significativa de colesterol bajo el modelo aditivo. Esto nos sugiere que una sola copia del alelo A del SNV rs2642438 es suficiente para modificar el riesgo de padecer enfermedades hepáticas. Sin embargo, en la literatura no existe un estudio de asociación similar de la variante rs2642438

con estos modelos de herencia, por lo que este estudio adiciona evidencia nueva, acerca del papel del SNV, en NAFLD.

Adicionalmente, nuestros resultados mostraron que el alelo A de la variante rs2642438 está relacionado con un mayor riesgo de hipertrigliceridemia y una tendencia a niveles bajos de HDL-c solo en hombres. Apoyando nuestros hallazgos, un estudio del genoma completo (GWAS, por sus siglas en inglés) realizado por Emdin CA, et, al. analizando distintas poblaciones europeas, demostró que esta variante de *MTARC1* está relacionada con niveles altos de triglicéridos y niveles bajos de HDL-c, LDL-c y colesterol total [10,13].

Aunque se desconoce el papel preciso y la función fisiológica de *MTARC1*, se ha propuesto que este fenotipo lipídico podría indicar un posible mecanismo fisiológico por el cual *MTARC1* podría participar en el desarrollo de NAFLD [12,28]. Un estudio realizado por Fracanzani et, al. han asociado la aparición de hipertrigliceridemia como un factor central en la progresión de la enfermedad hepática, metabólica y cardiovascular [25]. Aunque se desconoce el mecanismo específico por el cual *MTARC1* genera un efecto agregado para la hipertrigliceridemia y una tendencia a niveles bajos de HDL-c, podríamos especular algunos posibles mecanismos. El gen *MTARC1* codifica *MARC1* una enzima que contiene molibdeno [16]. Esta enzima modula la biodisponibilidad del óxido nítrico (NO) y la producción de L-arginina, moléculas clave involucradas en la función mitocondrial y endotelial [13, 29]. Un estudio realizado por Graffigna et, al. demostraron que la hipertrigliceridemia y la disfunción endotelial están estrechamente relacionadas a través de varios mecanismos [30]. La hipertrigliceridemia induce disfunción endotelial a través de aumentos en la inflamación y el estrés oxidativo, se cree que la biodisponibilidad vascular alterada del NO refleja una disfunción endotelial [40].

Se sabe que el HDL-c tiene una función ateroprotectora al promover el transporte del exceso de colesterol desde los macrófagos hasta la excreción hepática en la bilis y las heces. HDL-c promueve la biodisponibilidad de NO y tiene efectos antioxidantes, antiinflamatorios y anti-trombóticos, y reduce la apoptosis de las células endoteliales. Las HDL-c ricas en triglicéridos pueden hidrolizarse aún más en HDL-c más pequeñas y densas mediante la lipasa hepática. El HDL-c pequeño se elimina rápidamente a través de los riñones. Por ello se ha postulado que la disfunción endotelial se ve favorecida por la supresión de los niveles de HDL-c, bloqueando su acción anti-aterogénica [31, 40]. Por lo tanto, esta asociación podría relacionarse con un estudio reciente realizado por Innes et, al. que propuso que la variante rs2642438 confiere una función deletérea de la proteína *MARC1* [41]. En consecuencia, podríamos sugerir que el polimorfismo rs2642438 influye directa o indirectamente en la disfunción endotelial y podría generar un desequilibrio en los niveles de triglicéridos y HDL-c. Sin embargo, los mecanismos específicos no se conocen con certeza y son necesarios ensayos experimentales.

## 9. CONCLUSIONES

En este estudio no observamos una asociación significativa entre la variante rs2642438 del gen *MTARC1* con los niveles de transaminasas en la población de estudio. Por otro lado, se observó que los niveles de transaminasas no fueron afectados por los genotipos del SNV rs2642438 del gen *MTARC1*. Sin embargo, se observó una asociación del SNV rs2642438 del gen *MTARC1* con el perfil lipídico en la población de estudio; también observamos una asociación de riesgo para hipertrigliceridemia; y este efecto es específico del sexo masculino. Este hallazgo aporta información importante sobre el papel de esta variante sobre el metabolismo de lípidos en la población mexicana. Sin embargo, son necesarios estudios adicionales en diferentes poblaciones para corroborar estos hallazgos y determinar su posible mecanismo involucrado.

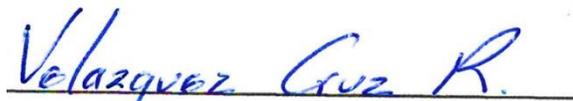
## 10. ALCANCE DEL ESTUDIO

Los datos de asociación obtenidos en este proyecto contribuyeron a la construcción de un Puntaje de Riesgo Genético (por sus siglas en inglés, genetic risk score), en el cual se incluyeron las variantes genéticas rs2642438 del gen *MTARC1*, rs56371916 del gen *ADCY5* y rs6564851 de *BCO1*.

Este Puntaje de Riesgo Genético se asoció en los hombres que portaban tres o más alelos de riesgo, y que presentan un aumento gradual significativo en los niveles de triglicéridos y una tendencia para bajos niveles de HDL-c en función de la cantidad de alelos de riesgo que portan. Por lo tanto, este enfoque podría ofrecer la posibilidad de una medicina personalizada, en la que los hombres con dislipidemia aterogénica puedan ser evaluados, diagnosticados y tratados.

## 11. Vo. Bo. De los contenidos académicos

Asesor externo



**Dr. Rafael Velázquez Cruz**

**Cédula 5647273**

Laboratorio de Genómica del Metabolismo Óseo, INMEGEN

Asesor interno



**Dr. Alberto Ortega Vázquez**

**(No. Económico 35583)**

Laboratorio Genética Molecular, Departamento de Sistemas Biológicos de la UAM-X

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. MedlinePlus en español [Internet]. Bethesda (MD): Biblioteca Nacional de Medicina (EE. UU.) [actualizado 13 enero 2022]. Hígado graso; revisado 30 dic. 2020; Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/fatty liver disease.html>
2. Kwak M-S, Kim D. Non-alcoholic fatty liver disease and lifestyle modifications, focusing on physical activity. *Korean J Intern Med* [Internet]. 2018;33(1):64–74. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3904/kjim.2017.343>
3. Bellentani S. The epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* [Internet]. 2017;37 Suppl 1:81–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/liv.13299>
4. EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* [Internet]. 2016;64(6):1388–402. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2015.11.004>
5. Perumpail B J, Khan M A. Clinical epidemiology and disease burden of nonalcoholic fatty liver disease. *CMIM* [Internet], 2017. Disponible en: [https://cmim.org/doc\\_articulos\\_cmim.php?idtxt=9](https://cmim.org/doc_articulos_cmim.php?idtxt=9)
6. Ma L, Tsatsos NG, Towle HC. Direct role of ChREBP. Mlx in regulating hepatic glucose-responsive genes. *J Biol Chem* [Internet]. 2005;280(12):12019–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M413063200>
7. Investigación RS. Determinaciones bioquímicas para el estudio de la función hepática [Internet]. RSI - Revista Sanitaria de Investigación. 2021. Disponible en: <https://revistasanitariadeinvestigacion.com/determinaciones-bioquimicas-para-el-estudio-de-la-funcion-hepatica/>
8. Diagnosing liver disease [Internet]. American Liver Foundation. 2022. Available from: <https://liverfoundation.org/for-patients/about-the-liver/diagnosing-liver-disease/>
9. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2018;15(1):11–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2017.109>
10. Aproximación diagnóstica al paciente con enfermedad hepática [Internet]. *Pediatriaintegral.es*. Disponible en: <https://www.pediatriaintegral.es/publicacion-2020-01/aproximacion-diagnostica-al-paciente-con-enfermedad-hepatica/>
11. Perspectivas globales de la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) y de la esteatohepatitis no alcohólica (NASH) [Internet]. *Asscat-hepatitis.org*. Available from: <https://asscat-hepatitis.org/perspectivas-globales-de-la-enfermedad-del-higado-graso-no-alcoholico-nafld-y-de-la-esteatohepatitis-no-alcoholica-nash/>
12. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases: *Hepatology*, Vol. XX, No. X, 2017. *Hepatology* [Internet]. 2018;67(1):328–57
13. Emdin CA, Haas ME, Khera AV, Aragam K, Chaffin M, Klarin D, et al. A missense variant in Mitochondrial Amidoxime Reducing Component 1 gene and protection against liver disease. *PLoS Genet* [Internet]. 2020;16(4): e1008629. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1008629>
14. Aguilera-Méndez A. Esteatosis hepática no alcohólica: una enfermedad silente [Nonalcoholic hepatic steatosis: a silent disease. *Revista médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2019;56(6): 544–9.

15. Luukkonen PK, Juuti A, Sammalkorpi H, Penttilä AK, Orešič M, Hyötyläinen T, et al. MARC1 variant rs2642438 increases hepatic phosphatidylcholines and decreases severity of non-alcoholic fatty liver disease in humans. *J Hepatol* [Internet]. 2020;73(3):725–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2020.04.021>
16. Starley BQ, Calcagno CJ, Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: a weighty connection. *Hepatology* [Internet]. 2010;51(5):1820–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/hep.23594>
17. Ertle J, Dechêne A, Sowa J-P, Penndorf V, Herzer K, Kaiser G, et al. Non-alcoholic fatty liver disease progresses to hepatocellular carcinoma in the absence of apparent cirrhosis: Absence of Cirrhosis in NASH-Derived HCC. *Int J Cancer* [Internet]. 2011;128(10):2436–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.25797>
18. Sookoian S, Castaño GO, Scian R, Mallardi p, Fernández-Gianotti T, Burgueño AL, Pirola CJ. Genetic variation in transmembrane 6 superfamily member 2 and the risk of nonalcoholic fatty liver disease and histological disease severity, *Hepatol*, 2015;61 (2): 515-525. DOI: 10.1002/hep.27556.
19. Krawczyk, M, Rau M, Schattenberg JM, Bantel H, Pathil A, Demir M, Geier A. Combined effects of the TM6SF2 rs 58542926, PNPLA3 rs738409 and MBOAT7 rs641738 variants on NAFLD severity: multicentre biopsy-based study. *J Lipid Res*. 2017; 57(1); 247-255. DOI 10.1194/jlr.P067454.
20. Musso, G., Cipolla, U., Cassader, M., Pinach, S., Saba, F., De Michieli, F., Paschetta, E., Bongiovanni, D., Framarin, L., Leone, N., Berrutti, M., Rosina, F., Corvisieri, S., Molinaro, F., Sircana, A., & Gambino, R. (2017). TM6SF2 rs58542926 variant affects postprandial lipoprotein metabolism and glucose homeostasis in NAFLD. *The Journal of Lipid Research*, 58(6), 1221–1229. <https://doi.org/10.1194/jlr.M075028>
21. Eslam CM, Mangia A, Berg T, Chan HL, Irving WL, Dore GJ, Miele L. Diverse impacts of the rs 58542926 E167K variant in TM6SF2 on viral and metabolic liver disease phenotypes. *Hepatol*. 2016;64(1): 34-36. DOI: 10.1002/hep.28475.
22. Collier J, Bassendine M. How to respond to abnormal liver function tests. *Clin Med* [Internet].2002;2(5):406–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.7861/clinmedicine.2-5-406>
23. Schneider, C. V., Schneider, K. M., Conlon, D. M., Park, J., Vujkovic, M., Zandvakili, I., Ko, Y.-A., Trautwein, C., Center, R., Carr, R. M., Strnad, P., Thaiss, C. A., & Rader, D. J. (2021). A genome-first approach to mortality and metabolic phenotypes in MTARC1 p.Ala165Thr (rs2642438) heterozygotes and homozygotes. *Med (New York, N.Y.)*, 2(7), 851-863.e3. <https://doi.org/10.1016/j.medj.2021.04.011>
24. Hudert, C. A., Adams, L. A., Alisi, A., Anstee, Q. M., Crudele, A., Draijer, L. G., EU-PNAFLD investigators, Furse, S., Hengstler, J. G., Jenkins, B., Karnebeek, K., Kelly, D. A., Koot, B. G., Koulman, A., Meierhofer, D., Melton, P. E., Mori, T. A., Snowden, S. G., van Mourik, I., Mann, J. P. (2022). Variants in mitochondrial amidoxime reducing component 1 and hydroxysteroid 17-beta dehydrogenase 13 reduce severity of nonalcoholic fatty liver disease in children and suppress fibrotic pathways through distinct mechanisms. *Hepatology Communications*, 6(8), 1934–1948. <https://doi.org/10.1002/hep4.1955>
25. Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, Andreoletti M, Colli A, Vanni E, et al. Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: a role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology* [Internet]. 2008;48(3):792–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/hep.22429>

26. Kang Y, Park S, Kim S, Koh H. Normal serum alanine aminotransferase and non-alcoholic fatty liver disease among Korean adolescents: a cross-sectional study using data from KNHANES 2010–2015. *BMC Pediatr* [Internet]. 2018;18(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12887-018-1202-z>
27. Rivera-Paredes B, Hidalgo-Bravo A, León-Reyes G, León-Maldonado LS, Aquino-Gálvez A, Castillejos-López M, et al. Total, bioavailable, and free 25-hydroxyvitamin D equally associate with adiposity markers and metabolic traits in Mexican adults. *Nutrients* [Internet]. 2021;13(10):3320. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/nu13103320>
28. Cheng Y, Zhang K, Chen Y, Li Y, Li Y, Fu K, et al. Associations between dietary nutrient intakes and hepatic lipid contents in NAFLD patients quantified by 1H-MRS and dual-echo MRI. *Nutrients* [Internet]. 2016;8(9):527. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/nu8090527>
29. Omeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*. 2008;40(12):1461–5.
30. Graffigna M, Catoira N, Soutelo J, Azpelicueta A, Berg G, Perel C, et al. Diagnóstico de esteatosis hepática por métodos clínicos, bioquímicos y por imágenes. *Rev Argent Endocrinol Metab* [Internet]. 2017;54(1):37–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.raem.2016.12.001>
31. Almeda-Valdés P, Cuevas-Ramos D, Alberto Aguilar-Salinas C. Metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol* [Internet]. 2009;8: S18–24. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s1665-2681\(19\)31822-8](http://dx.doi.org/10.1016/s1665-2681(19)31822-8)
32. Lambis A Lina, Solana T José Belisario, Gastelbondo P Bertha, Romero S Daniel, Garrido C Daniela, Puello R Walter et al. Factores de riesgo asociados a hígado graso de origen no alcohólico en una población del Caribe Colombiano. *Rev Col Gastroenterol* [Internet]. 2016; 31(2): 89-95. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-99572016000200001&lng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99572016000200001&lng=en)
33. Daliri MR. A hybrid automatic system for the diagnosis of lung cancer based on genetic algorithm and fuzzy extreme learning machines. *J Med Syst*. 2012;36(2):1001-5.
34. Denova-Gutiérrez, E.; Flores, Y.N.; Gallegos -Carrillo, K.; Ramírez-Palacios, P.; Rivera-Paredes, B.; Muñoz-Aguirre, P.; Velázquez-Cruz, R.; Torres-Ibarra, L.; Meneses-León, J.; Méndez-Hernández, P.; et al. Health Workers Cohort Study: Methods and Study Design. *Salud Publica Mex* 2016, 58, 708–716, doi:10.21149/SPM.V58I6.8299.
35. Romeo S. MARC1 and HNRNPUL1: Two novel players in alcohol-related liver disease. *Gastroenterology* [Internet]. 2020;159(4):1231–2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2020.08.009>
36. Shaheen M, Schrode KM, Pan D, Kermah D, Puri V, Zarrinpar A, et al. Sex-specific differences in the association between race/ethnicity and NAFLD among US population. *Front Med (Lausanne)* [Internet]. 2021; 8: 795421. Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fmed.2021.795421>
37. Kawano Y, Cohen DE. Mechanisms of hepatic triglyceride accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol* [Internet]. 2013;48(4):434–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00535-013-0758-5>

38. Klein JM, Busch JD, Potting C, Baker MJ, Langer T, Schwarz G. The mitochondrial amidoxime-reducing component (mARC1) is a novel signal-anchored protein of the outer mitochondrial membrane. *J Biol Chem* [Internet]. 2012;287(51):42795–803. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m112.419424>
39. Pais R, Maurel T. Natural history of NAFLD. *J Clin Med* [Internet]. 2021;10(6):1161. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/jcm10061161>
40. Zheng, X.Y.; Liu, L. Remnant-like Lipoprotein Particles Impair Endothelial Function: Direct and Indirect Effects on Nitric Oxide Synthase. *J Lipid Res* 2007 (48): 1673–1680. Available from: doi:10.1194/JLR.R700001-JLR200.
41. Innes, H.; Buch, S.; Hutchinson, S.; Guha, I.N.; Morling, J.R.; Barnes, E.; Irving, W.; Forrest, E.; Pedergnana, V.; Goldberg, D.; et al. Genome-Wide Association Study for Alcohol-Related Cirrhosis Identifies Risk Loci in MARC1 and HNRNPUL1. *Gastroenterology* 2020, 159, 1276-1289.e7, doi: 10.1053/J.GASTRO.2020.06.014.

## ANEXO

### A. Extracción de ADN

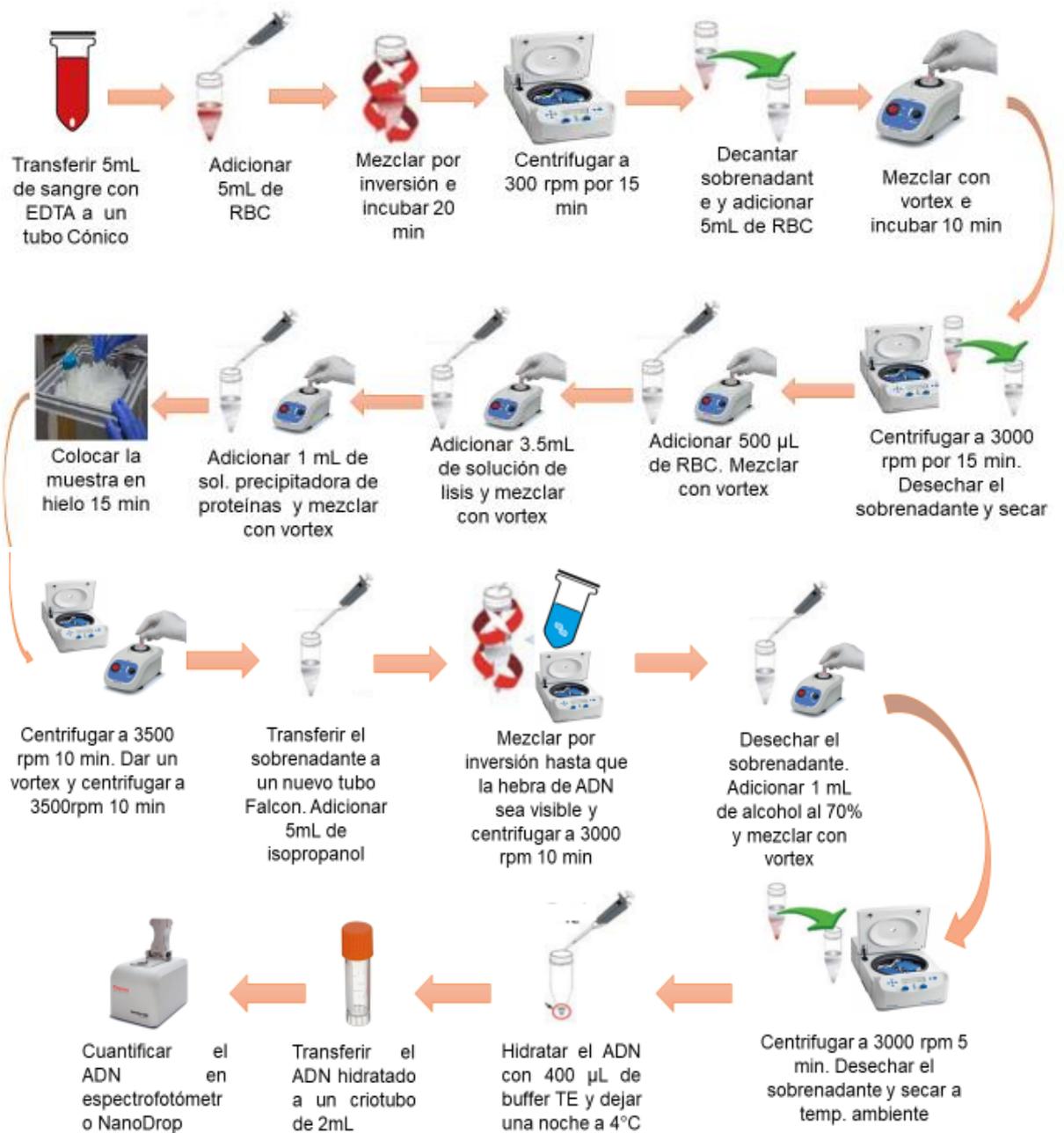
La extracción de ADN de la cohorte de trabajadores de la salud se realizó a partir de sangre total con el kit *PUREGENE QIAGEN* de acuerdo a los lineamientos del fabricante (**Figura 1A**) utilizando los siguientes materiales y reactivos:

#### MATERIALES y EQUIPO

- Pipetas serológicas de 10mL
- Micropipeta de 1000  $\mu$ L
- Tubos cónicos de 15mL
- Guantes
- Cubrebocas
- Centrifuga

#### REACTIVOS

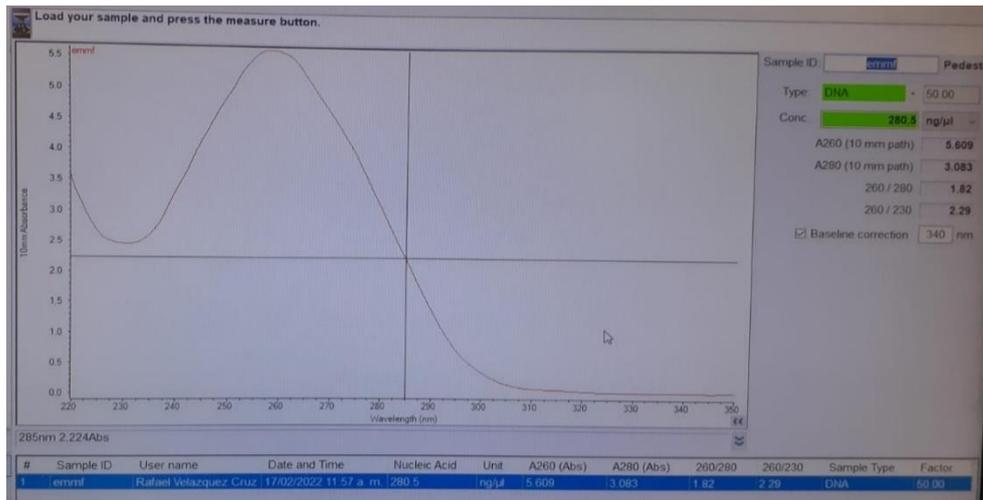
- Solución de lisis de glóbulos rojos (RBC)
- Solución de lisis de leucocitos
- Solución de precipitación de proteínas
- Solución hidratante de ADN (TE)
- Isopropanol grado reactivo
- Alcohol al 70%



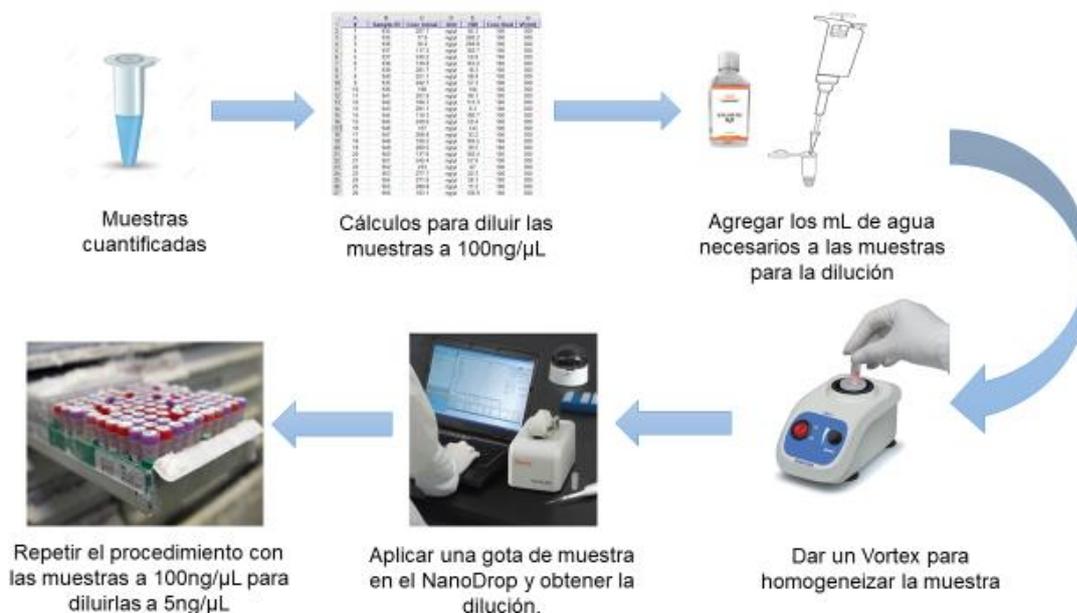
**Figura 1A.** Procedimiento para la extracción de ADN a partir de sangre periférica realizado en el laboratorio de Genómica del Metabolismo Óseo del INMEGEN.

## B. Cuantificación de ADN para genotipificación

Para la preparación de la muestra de DNA para la genotipificación de cada individuo incluido en el estudio, se extrajo por medio del kit *Genra Puregene Blood* (*Applied Biosystems*) de acuerdo a los lineamientos del fabricante. Se determinó la pureza y cuantificación de cada muestra en el espectrofotómetro NanoDrop 2000 considerando la relación A260/ A280 en un rango de 1.8-2.0 (**Figura 1B**). Posteriormente se realizaron dos diluciones, la primera dilución fue a 100 ng/μL, posteriormente se diluyó a 5 ng/μL (**Figura 2B**).



**Figura 1B.** Muestra el resultado de la concentración de ADN medida por el espectrofotómetro NanoDrop 2000. La imagen tomada directamente del software de espectrofotómetro para una de las muestras de ADN extraídas en laboratorio de Oncogenómica del INMEGEN.



**Figura 2B.** Procedimiento para realizar la dilución de muestras con el kit *Genra Puregene Blood* (*Applied Biosystems*).

### C. Genotipificación por PCR-q

El método PCR- Tiempo real para la genotipificación del SNP rs2642438 se realizó en el laboratorio de Genómica del Metabolismo Óseo dentro del INMEGEN de la siguiente manera:

- **Procedimiento para realizar una placa de PCR-Tiempo Real.**

#### REACTIVOS

- TaqMan Genotyping PCR Master Mix (Applied Biosystems)
- Agua grado biología molecular (ultrapura)
- Sonda TaqMan rs2642438
- Alcohol al 70%

#### MATERIALES

- Pipeta de 10  $\mu$ L
- Pipeta 200 $\mu$ L
- Pipeta 1000 $\mu$ L
- Puntas para pipeta 10  $\mu$ L, 200 $\mu$ L y 1000 $\mu$ L
- Microtubos de 1.5ml
- Placa de reacción óptica de 96 pocillos MicroAmp
- Película de sellado de placa
- Bolsa de desechos biológicos
- Guantes de látex
- Hielo

#### EQUIPOS

- Vortex
- Centrífuga
- QuantStudio 7 Flex real-time PCR systems

#### PROCEDIMIENTO

Se realizaron un total de 26 placas para el estudio de los 1,949 individuos trabajadores del IMSS del estado de Morelos (**Figura 1C y Figura 2C**).



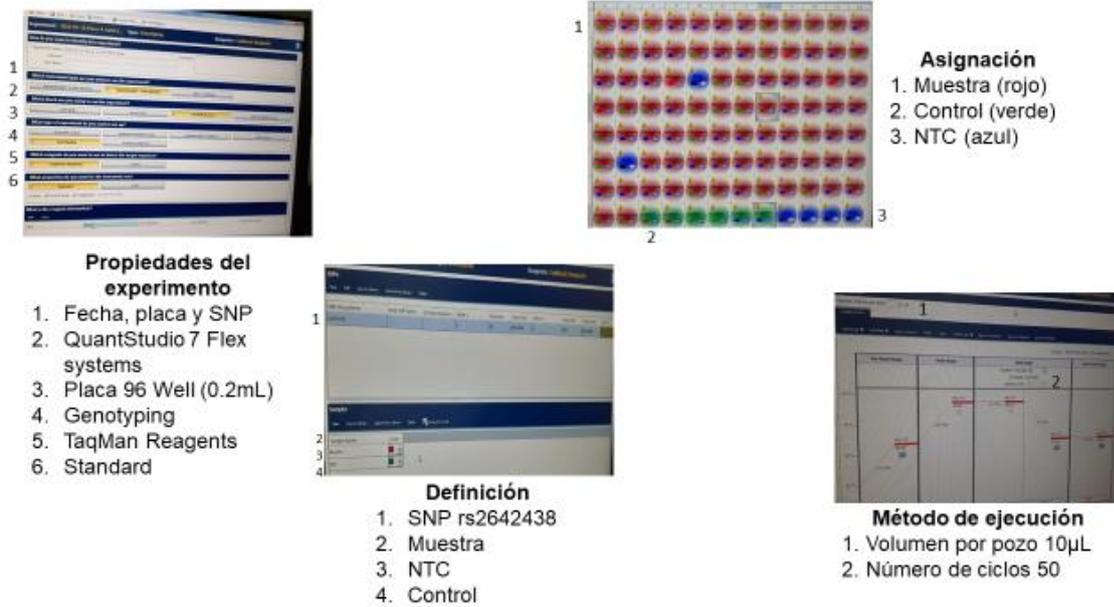
**Figura 1C.** Ejemplo de materiales y reactivos utilizados para realizar una placa PCR-Tiempo Real, en el laboratorio de Oncogenómica del INMEGEN.



**Figura 2C.** Procedimiento para realizar una placa PCR-Tiempo Real. \*Se tomaron como controles homocigotos A/A las muestras 5 y 11; heterocigotos A/G 16 y 35; homocigotos G/G las muestras 27 y 68.

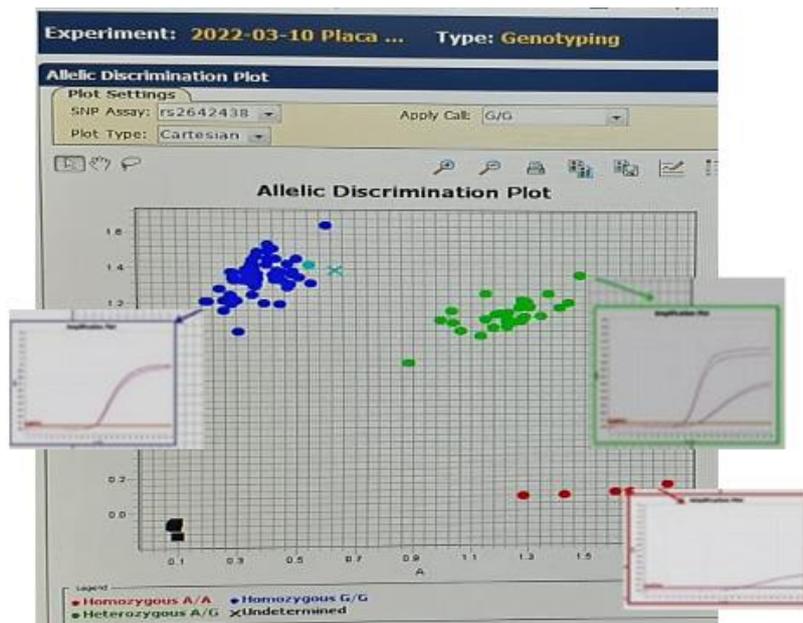
- **Procedimiento para la amplificación por PCR-Tiempo Real**

Se debe preparar el equipo, insertar la placa y programar las condiciones para la amplificación (Figura 3C).



**Figura 3C.** Programación del software del equipo para iniciar la amplificación de las muestras en el equipo de PCR-Tiempo Real.

Después de aproximadamente 2 horas se obtienen los resultados de la discriminación alélica (Figura 4C) y se envían al análisis estadístico.



**Figura 4C.** Gráfico de resultados de la discriminación alélica. En color azul se encuentran los homocigotos G/G; en verde los heterocigotos A/G y en rojo los homocigotos A/A.