



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO, AL TÍTULO DE

QUÍMICO Y FARMACÉUTICO

MODALIDAD: SEMESTRAL

TITULO:

**ASOCIACIÓN ENTRE EL rs738409 DEL GEN PNPLA3 y
OBESIDAD EN JOVENES UNIVERSITARIOS CON HÍGADO GRASO
NO ALCOHOLICO**

AUTOR:

ZEVALLOS ESCALANTE GABRIEL ENRIQUE.

TUTOR:

Blgo. GUSTAVO SAÚL ESCOBAR VALDIVIESO

GUAYAQUIL – ECUADOR

2018



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE GRADUACIÓN

TÍTULO Y SUBTÍTULO:	ASOCIACIÓN ENTRE EL rs738409 DEL GEN PNPLA3 y OBESIDAD EN JOVENES UNIVERSITARIOS CON HÍGADO GRASO NO ALCOHOLICO		
AUTOR(ES)	ZEVALLOS ESCALANTE GABRIEL ENRIQUE		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES)	ESCOBAR VALDIVIEZO GUSTAVO SAUL		
INSTITUCIÓN:	UNIVERSIDAD ESTATAL DE GUAYAQUIL		
UNIDAD/FACULTAD:	CIENCIAS QUIIMICAS		
MAESTRÍA/ESPECIALIDAD:			
GRADO OBTENIDO:	TERCER NIVEL - QUIMICO FARMACEUTICO		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	07/09/2019	No. DE PÁGINAS:	61
ÁREAS TEMÁTICAS:	Genética / Bioquímica		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	polimorfismo PNPLA3 - obesidad - hígado graso no alcohólico - riesgo cardiovascular - parámetros bioquímicos		
RESUMEN/ABSTRACT (150-250 palabras):	<p>Introducción: El hígado graso no alcohólico y la obesidad son enfermedades muy comunes en la actualidad ambas son clasificadas como enfermedades de tipo multifactorial. Objetivo: determinar la asociación que existe entre la presencia del polimorfismo rs738409 del gen PNPLA3 y la obesidad en jóvenes universitarios con hígado graso no alcohólico. Metodología: el presente estudio es tipo descriptivo, con un diseño no experimental de trasversal con un enfoque cuantitativo, se basó en el análisis del material genético amplificado de las muestras crio-conservadas de estudiantes con hígado graso no alcohólico con una población de 205 productos amplificados y una muestra representativa de 41 con parámetros bioquímicos. Resultados. De los 205 productos amplificados se analizó la prevalencia de enfermedades cardiovasculares (89.8%), obesidad (35.1%), y la presencia del polimorfismo (60%) alelo Premutado (CG) y (20.5%) alelo mutado en relación a las variables de estudio, en la muestra representativa (n=41) no existe una asociación de acuerdo al valor de significancia $p < 0,05$. (GG). Conclusión: En consideración tampoco se podría descartar la asociación del polimorfismo del gen PNPLA3 ya que el número de las muestras analizadas es inferior al número estimado en una población.</p>		
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: 0978700290	E-mail: Gabrielzevallos1104@gmail.com	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:	Nombre: Sede ciencias químicas		
	Teléfono: 042293680		
	E-mail: www.fcq.ug.edu.ec		



**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



Guayaquil, 21 de agosto del 2018

Dr. CARLOS SILVA HUILCAPI. M.Sc
DIRECTOR DE LA CARRERA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad.-

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación ASOCIACIÓN ENTRE EL rs738409 DEL GEN PNPLA3 y OBESIDAD EN JOVENES UNIVERSITARIOS CON HÍGADO GRASO NO ALCOHOLICO del estudiante Gabriel Enrique Zevallos Escalante indicando ha cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación.

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que el (los) estudiante (s) está (n) apto (s) para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Gustavo Escobar", written over a horizontal line.

BLGO. GUSTAVO ESCOBAR

TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN
c.i. 1204085813



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 21 de agosto del 2018

Dr. CARLOS SILVA HUILCAPI. M.Sc
DIRECTOR DE LA CARRERA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
 Ciudad.-

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la **REVISIÓN FINAL** del Trabajo de Titulación **ASOCIACIÓN ENTRE EL rs738409 DEL GEN PNPLA3 y OBESIDAD EN JOVENES UNIVERSITARIOS CON HÍGADO GRASO NO ALCOHOLICO** del estudiante **Gabriel Enrique Zevallos Escalante** Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

- El título tiene un máximo de 22 palabras.
- La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.
- El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad.
- La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.
- Los soportes teóricos son de máximo 5 años.
- La propuesta presentada es pertinente.

Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado, el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica el que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que el estudiante **Gabriel Enrique Zevallos Escalante** está apto para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,

OF. María Fernanda Vélez

DOCENTE TUTOR REVISOR

c.i. 0914961750



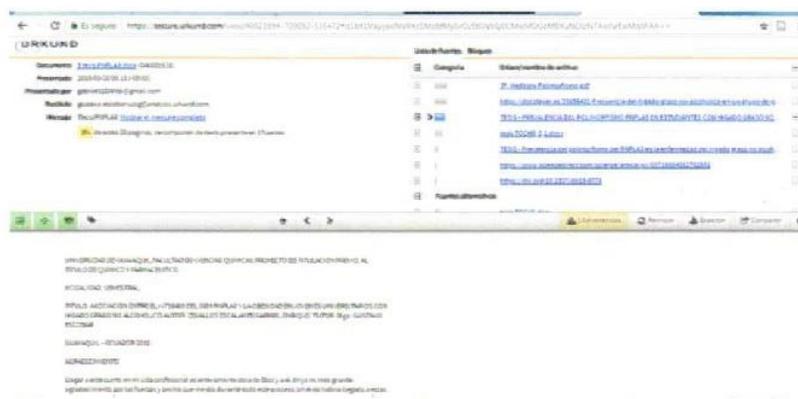
**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrado Blgo. Gustavo Saul Escobar Valdiviezo, tutor del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por Gabriel Enrique Zevallos Escalante con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Químico Farmacéutico.

Se informa que el trabajo de titulación: **ASOCIACIÓN ENTRE EL rs738409 DEL GEN PNPLA3 y OBESIDAD EN JOVENES UNIVERSITARIOS CON HÍGADO GRASO NO ALCOHOLICO**, ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa anti plagio Urkund quedando el 1% de coincidencia.



Blgo. Gustavo Escobar
C.I. 1204065813



<https://secure.orkund.com/view/40023694-709092-336472#g1bKLvayijaxiNVRKs5Mz8tMy0xOzEtOVblyODMwMDGzMDKyNDIzN7AwNrEwMq0FAA==>

URKUND

Documento: 1 tesis PNPLA3.docx (140331328)
Presentado: 2018-06-28 08:13 (-05:00)
Presentado por: gabriel104@bk@gmail.com
Recibido: gustavo_escobar_ucag@analisis.orkund.com
Mensaje: Tesis PNPLA3 [Mostrar el mensaje completo](#)
2% de estas 28 paginas, se componen de texto proveniente de 2 Fuentes.

Lista de fuentes Bloques

Categoría	Enlace/nombre de archivo
	F. Medicina Polimorfismo.pdf
	https://doi.org/10.29356/31-Frecuencia-del-higado-graso-no-alcobolico-en-un-grupo-de-
	TESIS - PREVALENCIA DEL POLIMORFISMO PNPLA3 EN ESTUDIANTES CON HIGADO GRASO NO...
	tesis TOCHS 0 1.docx
	TESIS - Prevalencia del polimorfismo del PNPLA3 en la enfermedad del hígado graso no alcoh...
	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0718864012002867
	https://doi.org/10.3337/dn13-0774
	Fuentes alternativas

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS PROYECTO DE TITULACION PREVIO AL TITULO DE QUIMICO Y FARMACEUTICO

MODALIDAD: SEMESTRAL

TITULO: ASOCIACION ENTRE EL rs3949 DEL GEN PNPLA3 Y LA OBESIDAD EN JOVENES UNIVERSITARIOS CON HIGADO GRASO NO ALCOHOLICO AUTOR: ZEBALLOS ESCALANTE GABRIEL ENRIQUE TUTOR Bg. GUSTAVO ESCOBAR

GUAYAQUIL - ECUADOR 2018

AGRADECIMIENTO

Llegar a este punto en mi vida profesional es enteramente obra de Dios y a él dirijo mi más grande agradecimiento por las fuerzas y ánimo que me dio durante todo este proceso sin el no habría llegado a esta:

ANEXO 04 - INF...docx ANEXO 03 - INF...docx ANEXO 02 - AGL...docx ANEXO 01 - FOR...docx Mostrar todo X





**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



**LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL
USO NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS**

Yo, **GABRIEL ENRIQUE ZEVALLOS ESCALANTE** con C.I. No. 093142959-1, certifico que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es **"ASOCIACIÓN ENTRE EL rs738409 DEL GEN PNPLA3 y OBESIDAD EN JOVENES UNIVERSITARIOS CON HÍGADO GRASO NO ALCOHOLICO "** son de mi absoluta propiedad y responsabilidad Y SEGÚN EL Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN*, autorizo el uso de una licencia gratuita intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la presente obra con fines no académicos, en favor de la Universidad de Guayaquil, para que haga uso del mismo, como fuera pertinente.

GABRIEL ENRIQUE ZEVALLOS ESCALANTE
C.I. No. 093142959-1

*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Dic./2016) Artículo 114.- De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.- En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.



**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**

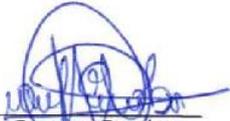


Guayaquil, 20 de agosto del 2018

APROBACION DEL TUTOR

En calidad de tutor del trabajo de titulación, certifico: que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación, cuyo título es **ASOCIACION ENTRE EL RS738409 DEL GEN PNPLA3 Y LA OBESIDAD EN JOVENES UNIVERSITARIOS CON LA ENFERMEDAD DE HIGADO GRASO NO ALCOHOLICO** presentado por **GABRIEL ENRIQUE ZEVALLOS ESCALANTE** con numero de cedula 093142959-1, previo al título de **QUIMICO FARMACEUTICO**.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de antiplagio del programa urkund, lo certifico.


Blgo. Gustavo Escobar
CI: 1204085813



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 21 de agosto del 2018

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrado GUSTAVO SAUL ESCOBAR VALDIVIEZO, tutor del trabajo de titulación ASOCIACIÓN ENTRE EL rs738409 DEL GEN PNPLA3 y OBESIDAD EN JOVENES UNIVERSITARIOS CON HÍGADO GRASO NO ALCOHOLICO certifico que el presente trabajo de titulación, elaborado por GABRIEL ENRIQUE ZEVALLOS ESCALANTE con C.I. No. 093142959-1 , con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Químico farmacéutico , en la Carrera/Facultad, ha sido **REVISADO Y APROBADO** en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "María Fernanda Vélez".

QF. María Fernanda Vélez

DOCENTE TUTOR REVISOR

C.I. No. 0914961950



**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



El Tribunal de Sustentación del Trabajo de Titulación del Sr. **GABRIEL ENRIQUE ZEVALLOS ESCALANTE**, después de ser examinado en su presentación, memoria científica y defensa oral, da por aprobado el Trabajo de Titulación.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "María Fernanda Vélez", written over a horizontal line.

QF. María Fernanda Vélez

PRESIDENTE-MIEMBRO 1 DEL TRIBUNAL

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "María Del Carmen Villacrés", written over a horizontal line.

QF. María Del Carmen Villacrés Ph.D.

DOCENTE-MIEMBRO 2 DEL TRIBUNAL

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Sandra Recalde", written over a horizontal line.

Dra. Sandra Recalde

DOCENTE-MIEMBRO 3 DEL TRIBUNAL

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Francisco Palomeque Romero", written over a horizontal line.

Ab. FRANCISCO PALOMEQUE ROMERO Msg.

SECRETARIO GENERAL

AGRADECIMIENTO

Llegar a este punto en mi vida profesional es enteramente obra de Dios y a él dirijo mi más grande agradecimiento por las fuerzas y animo que me dio durante todo este proceso sin él no habría llegado a estas instancias.

A mi familia que durante toda la carrera universitaria me brindaron su apoyo incondicional y fueron mi motivación para seguir adelante sin importar lo difícil que sea el camino.

A mi tutor Blgo. Gustavo Escobar quien en todo momento impartió sus conocimientos y fue una gran motivación durante esta etapa de mi vida, sin duda un ejemplo a seguir en mi vida profesional.

Gabriel Enrique Zevallos Escalante

DEDICATORIA

Le dedico este trabajo, así como todo proyecto en mi vida a Dios y a mis padres, Jacqueline Escalante y Eddy Gabriel Zevallos por todo el apoyo en cada meta que me propuesto, por brindarme su amor y motivación y por hacerme saber que sin importar lo difícil que pueda ser una situación siempre hay que ser constante y fuerte para salir de ella.

Gabriel Enrique Zevallos Escalante

INDICE

AGRADECIMIENTO	X
DEDICATORIA.....	XI
INDICE	XII
INDICE DE TABLAS.....	XVI
Índice de Ilustraciones.....	XVII
RESUMEN	XVIII
ABSTRACT	XIX
1. CAPITULO1	1
1.1 Introducción.....	1
1.2 Problema.....	2
1.2.1 Justificación	2
1.3 Planteamiento del problema	3
1.4 Formulación del problema.....	4
1.5 Objetivos.....	4
1.5.1 Objetivo general.....	4
1.5.2 Objetivos específicos	4
1.6 Hipótesis	5
1.7 Variables	5
1.7.1 Variable dependiente.....	5
1.7.2 Variable independiente	6
1.7.3 Operacionalización de las variables	7
2 MARCO TEORICO	8

2.1 Antecedentes.....	8
2.2 Hígado graso no alcohólico	8
2.2.1 Etiología.....	9
2.2.2 Fisiopatología.....	10
2.2.3 Patogénesis.....	11
2.3 Obesidad	11
2.3.1 Causas y consecuencias de la obesidad.....	12
2.3.2 Actividad física	13
2.3.3 Conductas sedentarias	13
2.4 Enfermedades relacionadas con la obesidad.....	14
2.4.1 Riesgo cardiovascular	15
2.5 Perfil Lipídico	16
2.5.1 Ingesta de lípidos	16
2.6 Marcadores bioquímicos.....	17
2.6.1 Glucosa.....	17
2.6.2 Triglicéridos	17
2.6.3 Colesterol LDL	18
2.6.4 Colesterol HDL	18
2.6.5 Proteína c reactiva.....	19
2.7 Expresión Genética.....	20
2.7.1 Fundamentos de la expresión genética.....	20
2.7.2 Organización del genoma humano.....	21
2.7.3 Transcripción y variación del genoma humano	22

2.7.4 Variación genética poblacional	23
2.8 Genómica nutricional relacionada con la obesidad	23
2.9 Gen PNPLA3	24
2.10 Mutación	25
2.11 Polimorfismo	26
2.11.1 Clasificación de los polimorfismos.....	27
2.11.2 Polimorfismo de un único nucleótido (SNP)	27
2.11.3 Polimorfismo como una respuesta individual ante una dieta.....	28
2.12 Polimorfismo rs738409	29
2.13 Diagnóstico molecular	30
2.15 Extracción de ADN.....	31
2.16 Análisis de genes	32
2.15.1 PCR en tiempo real	33
2.16 Marco referencial.....	34
GLOSARIO.....	36
3 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	39
3.1 Justificación del método de elección	39
3.2. Población y muestras	39
3.2.1. Criterio de Inclusión.....	40
3.2.2. Criterio de Exclusión	40
3.3. Técnica y Modelos de análisis de datos.....	40
3.3.1. Técnica	40
3.3.2. Instrumento	41

4. RESULTADOS Y CONCLUSIONES	42
4.1 Distribución por sexo.....	42
4.2 Prevalencia de enfermedades cardiovasculares	43
4.3 Obesidad	44
4.4. Ingesta de alcohol	45
4.5 Variante genética del polimorfismo en la población de estudio.....	46
4.6 Asociación Perfil lipídico / Variante génica.....	47
4.6 Conclusiones.....	49
4.7 Recomendaciones	51
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	52
ANEXOS.....	56

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Distribución por sexo	42
Tabla 2 Prevalencia de enfermedades cardiovasculares.....	43
Tabla 3 Obesidad.....	44
Tabla 4 Ingesta de alcohol.....	45
Tabla 5 Variante génica.....	46
Tabla 6 Asociación perfil lipídico/variante génica.....	47

Índice de Ilustraciones

Ilustración 1 Relación perfil genético/Sexo **¡Error! Marcador no definido.**

RESUMEN

Introducción: El hígado graso no alcohólico y la obesidad son enfermedades muy comunes en la actualidad ambas son clasificadas como enfermedades de tipo multifactorial. **Objetivo:** determinar la asociación que existe entre la presencia del polimorfismo rs738409 del gen PNPLA3 y la obesidad en jóvenes universitarios con hígado graso no alcohólico. **Metodología:** el presente estudio es tipo descriptivo, con un diseño no experimental de trasversal con un enfoque cuantitativo, se basó en el análisis del material genético amplificado de las muestras crio-conservadas de estudiantes con hígado graso no alcohólico con una población de 205 productos amplificados y una muestra representativa de 41 con parámetros bioquímicos. **Resultados.** De los 205 productos amplificados se analizó la prevalencia de enfermedades cardiovasculares (89.8%), obesidad (35.1%), y la presencia del polimorfismo (60%) alelo Pre-mutado (CG) y (20.5%) alelo mutado en relación a las variables de estudio, en la muestra representativa (n=41) no existe una asociación de acuerdo al valor de significancia $< p=0,05$. (GG). **Conclusión:** En consideración tampoco se podría descartar la asociación del polimorfismo del gen PNPLA3 ya que el número de las muestras analizadas es inferior al número estimado en una población.

Palabras clave: polimorfismo PNPLA3 - obesidad – hígado graso no alcohólico – riesgo cardiovascular – parámetros bioquímicos

ABSTRACT

Introduction: Non-alcoholic fatty liver and obesity are very common diseases. Both are currently classified as multifactorial diseases. **Objective:** to determine the association that exists between the presence of polymorphism rs738409 of the PNPLA3 gene and obesity in university students with non-alcoholic fatty liver. **Methodology:** the present study is a descriptive type, with a non-experimental cross-sectional design with a quantitative approach, based on the analysis of the amplified genetic material of the cryopreserved samples of students with nonalcoholic fatty liver with a population of 205 amplified products. and a representative sample of 41 with biochemical parameters. **Results** Of the 205 amplified products, the prevalence of cardiovascular diseases (89.8%), obesity (35.1%), and the presence of the polymorphism (60%) allele (CG) and (20.5%) mutated allele were analyzed in relation to the variables of study, in the representative sample (n = 41) there is no association according to the value of significance $<p = 0.05$. (GG) **Conclusion:** The polymorphism of the PNPLA3 gene could not be ruled out considering that the number of samples analyzed is lower than the estimated number in a population.

Key words: PNPLA3 polymorphism - obesity - non-alcoholic fatty liver - cardiovascular risk - biochemical parameters

1. CAPITULO1

1.1 Introducción

El Hígado graso no alcohólico (HGNA) se define como la infiltración de grasa al hígado mayor al 5% de su peso incluyendo un amplio espectro de trastornos hepáticos que van desde la esteatosis simple hasta la esteatohepatitis pudiendo progresar a fibrosis, cirrosis, carcinoma hepatocelular y muerte (Castillo, 2015).

Los factores de riesgo asociados frecuentemente al HGNA son: obesidad, diabetes tipo 2 y dislipidemia; la prevalencia de obesidad en diferentes estudios de pacientes diagnosticados con HGNA varía entre el 30 y 100 %, la diabetes tipo 2 entre el 10 y 75 % y la dislipidemia entre el 20 y 92 %, Según Barisio, la obesidad parecería ser el factor de riesgo con mayor importancia para esta enfermedad junto a otros factores como el estilo de vida, al igual que el envejecimiento, los cuales están asociados también a un aumento de la incidencia de esta enfermedad, estudios genómicos a gran escala asocian variaciones genéticas en el gen PNPLA3 asociados con el aumento de triglicéridos en el contenido hepático relacionando directamente el polimorfismo de este gen con la enfermedad de HGNA (Barisio D'Angelo, Actis, & Outomuro, 2009; Martínez, Larrieta, Calva, Kershenobich, & Torre, 2017).

En el año 2008 se identificó en el gen de la fosfolipasa A3 un polimorfismo de nucleótido único PNPLA3 asociado fuertemente con la enfermedad de HGNA este polimorfismo se debe a la sustitución de metionina por isoleucina en el residuo 148 del gen lo que conlleva a una mayor lipogénesis cuya expresión predomina en el hígado y tejido adiposo (Martínez et al., 2017).

1.2 Problema

1.2.1 Justificación

La enfermedad de HGNA, es actualmente una de las enfermedades hepáticas más frecuentes a nivel mundial. Fue descrita a principios de los años 80 por Ludwig y colaboradores en pacientes sin ingesta importante de alcohol pero que presentaban biopsias hepáticas indistinguibles de la enfermedad hepática alcohólica; esta enfermedad abarca un amplio espectro de alteraciones hepáticas que van desde la esteatosis simple (acumulación excesiva de grasa dentro de los hepatocitos) a esteatohepatitis, fibrosis avanzada y cirrosis hepática, esta enfermedad se trata una acumulación excesiva de grasa en los hepatocitos, presenta un amplio espectro de anomalías histológicas y clínicas, con daño hepático que va desde la esteatosis simple y la esteatohepatitis hasta la fibrosis avanzada y la cirrosis (Barisio D'Angelo et al., 2009; Esther et al., 2016).

Se diagnostica a una persona con esta enfermedad cuando presenta una acumulación de grasa macro vesicular en el hígado, que excede del 5 al 10% del peso de esta glándula en individuos que no consumen alcohol o tienen un consumo mínimo; también se acepta cuando presenta degeneración de la grasa del hígado que afecta a más del 5% de los hepatocitos, no relacionada con la ingesta de alcohol, que abarca un espectro lesional que va desde la esteatosis simple, la esteatohepatitis con fibrosis o sin ella y, finalmente, la cirrosis hepática (Esther et al., 2016).

1.3 Planteamiento del problema

Actualmente es conocido que PMPLA3 está directamente relacionado con la enfermedad de HGNA pero que actúa de forma distinta en diferentes etnias con respecto al contenido de grasa hepática y susceptibilidad a la progresión de esta enfermedad, este polimorfismo se presenta de manera común en poblaciones hispanas (Martínez et al., 2017).

El rs738409 un polimorfismo de nucleótido único que codifica la proteína variante 148met de PNPLA3 es un determinante genético de esteatosis hepática (Singal et al., 2014), a través de análisis estadísticos se busca asociar este polimorfismo y la obesidad en jóvenes universitarios previamente diagnosticados con la enfermedad de HGNA.

1.4 Formulación del problema

¿Cuál es el grado de asociación que existe entre la presencia del polimorfismo rs738409 del gen PNPLA3 y la obesidad en jóvenes universitarios con hígado graso no alcohólico?

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Determinar la asociación entre la presencia del polimorfismo rs738409 del gen PNPLA3 y la obesidad en jóvenes universitarios con hígado graso no alcohólico

1.5.2 Objetivos específicos

1. Determinar la prevalencia del polimorfismo rs738409 del gen PNPLA3 en jóvenes universitarios con HGNA mediante análisis de datos.

2. Realizar un análisis comparativo entre los pacientes que presenten el polimorfismo rs738409 y enfermedades subyacentes de la obesidad como el riesgo cardiovascular y perfil lipídico elevado.
3. Establecer el grado de influencia del polimorfismo rs738409 y el desarrollo de obesidad.

1.6 Hipótesis

Existe una relación directa entre el rs738409 del gen PNPLA3 y la obesidad en jóvenes diagnosticados con hígado graso no alcohólico

1.7 Variables

1.7.1 Variable dependiente

Presencia del rs738409 del gen PNPLA3

1.7.2 Variable independiente

- Obesidad
- Riesgo cardiovascular
- Perfil lipídico elevado

1.7.3 Operacionalización de las variables

Variable		Concepto
Dependiente	Gen PNPLA3	Polimorfismo de un solo nucleótido en el gen PNPLA3 relacionado con la enfermedad de hígado graso no alcohólico
	Obesidad	De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la obesidad es una enfermedad crónica, caracterizada por el aumento de la grasa corporal
Independiente	Riesgo cardiovascular	Son un grupo de desórdenes del corazón y de los vasos sanguíneos que conlleva cardiopatías coronarias (ataques cardíacos), apoplejías, hipertensión, entre otros, por lo general estas enfermedades se agrupan en el tipo de enfermedades multifactoriales.
	Perfil lipídico anormal	Un perfil lípido elevado está fuertemente relacionado con la obesidad, los principales indicadores con colesterol y triglicérido.

2 MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes

Según Zavala y Reyes en el 2010 la prevalencia de HGNA, tuvo un aumento de un 20 al 30% y datos actuales sugieren que aproximadamente 2-3% de la población tiene esta enfermedad; en su mayoría, los pacientes no presentan síntomas y su diagnóstico se da cuando se realizan exámenes de rutina, por lo general se sospecha de la presencia de esta enfermedad en pacientes que tienen sobrepeso u obesidad y que en sus análisis bioquímicos presenten glucosa normal en ayuna, HDL disminuido y triglicéridos elevados (Zavala & Reyes, 2010).

2.2 Hígado graso no alcohólico

La enfermedad del HGNA es la infiltración de grasa al hígado en un porcentaje mayor al 5% de su peso incluyendo un amplio espectro de trastornos hepáticos que van desde la esteatosis simple en la que se encuentra esteatosis macro o microvesicular, a la esteatohepatitis no alcohólica, que se caracteriza por una reacción inflamatoria con lesión de hepatocitos con o sin fibrosis, su prevalencia va en aumento junto con la epidemia de la obesidad a nivel mundial

hasta la esteatohepatitis pudiendo progresara fibrosis, cirrosis, carcinoma hepatocelular y muerte (Castillo, 2015).

Esta enfermedad se caracteriza principalmente por la acumulación de ácidos grasos libres y triglicéridos en el citoplasma de los hepatocitos, preferentemente en forma de grandes vacuolas de grasa, en pacientes sin un consumo tóxico de alcohol y no asociado a otras enfermedades hepáticas (Caballería et al., 2014).

2.2.1 Etiología

Los factores etiológicos que se asocian a la presencia de HGNA se clasifican en primarios, que son los más importantes, y están relacionados con los diferentes componentes que conforman el síndrome metabólico (SM): obesidad, diabetes tipo 2 y dislipidemia; los factores secundarios son menos frecuentes, y están relacionados con el consumo de ciertos fármacos (corticoides, estrógenos, amiodarona, tamoxifeno), cirugía bariátrica, nutrición parenteral, enfermedades metabólicas congénitas y otros tóxicos (Caballería et al., 2014).

Para el desarrollo del HGNA, se han considerado una teoría de doble impacto para explicar la presencia de Esteatosis suave y la progresión a la inflamación, fibrosis y cirrosis. Primer Paso: Es la Esteatosis Hepática, que es considerada la forma más simple del HGNA. Se desarrolla a partir de un desequilibrio en los Triglicéridos y una disfunción mitocondrial; la resistencia a la insulina es considerada un requisito para influir en este paso: Segundo paso: Se compone de una lesión secundaria, en particular por las adipocitoquinas que estas activan a las células estrelladas del hígado, provocando un aumento en la fibrogénesis y la peroxidación lipídica (Zavala & Reyes, 2010).

2.2.2 Fisiopatología

El mecanismo fisiopatológico exacto de la enfermedad de HGNA es desconocido. La resistencia a la insulina (RI) está vinculada a la obesidad y es un elemento central en la patogenia de HGNA. Se explica como la teoría del doble impacto. En el 1er. impacto la RI produce hiperinsulinemia, lo cual a su vez estimula la lipólisis y la liberación de ácidos grasos libres (AGL) al hígado promoviendo la aparición de la esteatosis hepática. El 2do. impacto es consecuencia del estrés oxidativo, la sobrecarga hepática de AGL que genera radicales libres de oxígeno (RLO) induciendo la síntesis de citoquinas proinflamatorias, esta segunda fase explicaría la evolución a fenómenos necroinflamatorios, fibrosis y cirrosis en individuos genéticamente susceptibles (Castillo, 2015).

2.2.3 Patogénesis

Como se menciona anteriormente, esta enfermedad es la manifestación hepática del síndrome metabólico o síndrome de resistencia a la insulina asociada a otras enfermedades como obesidad, diabetes tipo II, dislipidemia e hipertensión arterial, el mecanismo de inicio y progresión a esteatohepatitis no alcohólica no se ha entendido completamente y se verá en dependencia a la presencia de muchos factores en el contexto de una predisposición genética (Santos et al., 2010).

2.3 Obesidad

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la obesidad es una enfermedad crónica, caracterizada por el aumento de la grasa corporal, asociada altamente a riesgos para la salud cuya principal característica es un mayor contenido de grasa corporal, podemos clasificar la obesidad de acuerdo al Índice de Masa Corporal (IMC), por la buena correlación que presenta este indicador y el riesgo para la salud a nivel poblacional (Moreno, 2012).

Debido a la alta relación existente entre la obesidad abdominal y enfermedades cardiovasculares es aceptado actualmente indicadores clínicos que permiten establecer un diagnóstico como es la medición de la circunferencia de la cintura, según reportes de la OMS, desde el año 2010, 65% de la población mundial vive en países donde el sobrepeso y la obesidad cobran más vidas que el índice ponderal (Moreno, 2012).

2.3.1 Causas y consecuencias de la obesidad

La causa principal del sobrepeso y la obesidad se puede definir fundamentalmente como el desequilibrio energético entre las calorías consumidas y calorías gastadas esta relación tiene una tendencia dada por tener una mayor ingesta de alimentos ricos en grasas, sal y azúcares y pobres en vitaminas, en conjunto con un estilo de vida sedentario, la obesidad es un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, los trastornos del aparato locomotor y algunos cánceres (Moreno, 2012).

2.3.2 Actividad física

La actividad física siempre será un factor determinante en la presencia de enfermedades de tipo cardiovascular y obesidad, llevar un estilo saludable de vida que incluya actividad física frecuente representara una disminución significativa del grosor intima-media carotídeo (Garcia, Ana liLén. Rodríguez, 2016).

Se define como actividad física a los movimientos de músculos esqueléticos que exija gasto de energía, sus efectos beneficiosos en la prevención del riesgo cardio vascular dependiente de factores metabólicos están sumamente comprobados, demostrando así que la actividad física de manera frecuente regula las concentraciones de colesterol HDL y disminuye el colesterol LDL y los triglicéridos (Garcia, Ana liLén. Rodríguez, 2016)

2.3.3 Conductas sedentarias

La inactividad física es muy común en la actualidad sea cual sea el contexto conlleva a un desequilibrio en la salud, en la actualidad vivimos en una época en la que el ser humano busca siempre la forma de automatizar todo y moverse menos, estos cambios que van desde el

transporte diario, comunicación y tecnologías de ocio domestico lleva consigo una reducción significativa de gasto de energía humana (Garcia, Ana liLén. Rodríguez, 2016).

Estas conductas sedentarias llevan consigo un bajo consumo energético de 1 a 1,5 veces del metabolismo basal, personas con este tipo de conducta presentan un perfil metabólico anormal con biomarcadores de resistencia a la insulina estas ausencia de actividad física contribuye al inicio precoz y progresivo de enfermedades cardiovasculares (Garcia, Ana liLén. Rodríguez, 2016).

2.4 Enfermedades relacionadas con la obesidad

Actualmente existen varios estudios que relacionan la obesidad con diferentes enfermedades en especial las enfermedades de tipo multifactorial, una de las mencionadas y principalmente relacionada con la obesidad es el hígado graso o también conocida como esteatosis hepática la cual es una patología caracterizada por la acumulación de grasa en el hígado, a su vez la obesidad desencadena otras patologías multifactoriales como el riesgo cardio vascular y el perfil lipídico anormal (Vega Abascal et al., 2011).

2.4.1 Riesgo cardiovascular

Las enfermedades cardiovasculares son un grupo de desórdenes del corazón y de los vasos sanguíneos que conlleva cardiopatías coronarias (ataques cardíacos), apoplejías, hipertensión, entre otros, por lo general estas enfermedades se agrupan en el tipo de enfermedades multifactoriales teniendo como principales causas el estilo de vida, que incluye dieta y actividad física, el índice de masa corporal y la predisposición genética que juega un papel determinante en el desarrollo de estas enfermedades (García, Ana LiLén. Rodríguez, 2016).

El riesgo cardiovascular se define como la probabilidad de presentar una enfermedad cardiovascular en un periodo determinado, para diagnosticar o para que una persona sea incluida en el grupo de personas con riesgo cardíaco existen varias tablas o scores que por lo general asocian factores tales como sexo, edad, HDL colesterol, presión arterial, entre otros, las mayoría de estas tablas se basan en la ecuación de riesgo del estudio de Framingham clásico con la cual se permitió calcular el riesgo coronario en un plazo de 10 años (García, Ana LiLén. Rodríguez, 2016)

Los riesgos cardiovasculares están fuertemente ligados a la obesidad la cual a su vez tiene una relación directa con el estilo de vida y la ingesta de lípidos, los cuales en una dieta

común representa una fuente primordial de energía cuya calidad tiene una profunda influencia con la salud, pero una dieta alta en grasas aumenta la probabilidad de padecer obesidad (García, Ana Lilén. Rodríguez, 2016)

2.5 Perfil Lipídico

2.5.1 Ingesta de lípidos

La grasa de los alimentos está formada mayormente por ácidos grasos y las principales fuentes son de origen animal como carnes y otros derivados como la leche, mantequilla y el queso, en la actualidad existen numerosos estudios que relacionan la ingesta de ácidos grasos saturados y el perfil lipídico principalmente con el aumento de concentraciones de colesterol total, colesterol HDL y colesterol LDL los cuales son considerados como los principales indicadores de riesgo cardiovascular (García, Ana Lilén. Rodríguez, 2016).

Según Torres en su estudio publicado para la revista cubana *Genet Comunit* en el año 2016, determinó la relación sobrepeso/obesidad evaluada por el índice cintura talla con alteraciones metabólicas, específicamente con niveles elevados de triglicéridos en sangre,

teniendo como muestra del estudio 52 adultos de ambos sexos trabajadores del centro nacional de genética médica (Torres, Tatiana, Sánchez, Ojeda, & Vi, 2016).

2.6 Marcadores bioquímicos

2.6.1 Glucosa

El síndrome metabólico (SM) es un desorden caracterizado clínicamente por presentar obesidad abdominal, hipertensión, dislipidemia y resistencia a la insulina. La diabetes mellitus (DM) define un desorden en el metabolismo de múltiples etiologías, la diabetes mellitus es una patología que se considera como un problema de salud pública (Carvajal, 2017).

2.6.2 Triglicéridos

Se los define como el tipo más común de grasa en el cuerpo, están compuestos químicamente por una molécula de glicerol y tres ácidos grasos. Una concentración excesiva de grasa en la región abdominal con enfermedades cardiovascular. Se han realizado estudios

para identificar los indicadores de la obesidad y el riesgo cardiovascular metabólico relacionados con parámetros simples, como las medidas antropométricas y bioquímicas (Clara Silvana Weiler Miralles, 2015).

2.6.3 Colesterol LDL

Uno de los factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares destaca los niveles de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (LDL), existe una gran controversia sobre la manera de reducirlos, este tipo de lipoproteínas constituyen la principal causa de morbimortalidad en pacientes con lupus eritematoso sistémico (María Navarro, 2017) (EnriqueGalve, 2016).

2.6.4 Colesterol HDL

Los niveles séricos de colesterol transportado en las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se correlacionan inversamente con el riesgo cardiovascular aterosclerótico. La composición lipídica y proteica y las propiedades funcionales de las lipoproteínas de alta

densidad (HDL) determinan las funciones biológicas de esta fracción lipoproteica (Guadalupe Echeverría, 2017).

2.6.5 Proteína c reactiva

Las enfermedades cardiovasculares están ligadas con procesos inflamatorios lo que acusa el aumento de los valores reactantes de fase aguda como la proteína c reactiva, según un reporte emitido por la OMS las enfermedades cardiovasculares son la causa del 30% de las muertes del mundo, estas cardiopatías se relacionan con procesos aterosclerótico donde ocurren procesos inflamatorios en la íntima y la esclerosis conocida como el endurecimiento y taponamiento de la luz del vaso (Cifuentes, Monteros, Franco, & Cárdenas, 2015).

La proteína c reactiva es una proteína sintetizada por los hepatocitos, su nombre se debe por la reacción con el polisacárido c Pneumococico, forma parte de la familia de las proteínas pentraxina conformada por cinco subunidades y su vida media en el plasma es de 18 a 20 horas, es un marcador de inflamación de alta sensibilidad, pero inespecífico (Cifuentes et al., 2015).

2.7 Expresión Genética

El genoma humano se comprende de grandes cantidades de ácido desoxirribonucleico (ADN) que contiene en su estructura la información genética necesaria para especificar todos los aspectos de la embriogénesis, el desarrollo, el crecimiento, el metabolismo y reproducción del ser humano, toda célula nucleada del cuerpo posee alrededor de 20.000 a 50.000 genes codificados en el ADN que se encuentran estructurados en los cromosomas, la influencia de los genes y la genética en los estados de salud y enfermedad es muy amplia y sus raíces se encuentran codificadas en el ADN del genoma humano (Nussbaum, 2016).

La expresión genética está regulada por múltiples procesos y niveles transcripcionales y post transcripcionales entre ellos el control de la traducción y degradación de los ARNm (Hu, Yuan, & Lodish, 2014).

2.7.1 Fundamentos de la expresión genética

Para los genes que codifican proteínas, el flujo de información desde el gen al polipéptido implica varios pasos, iniciando con la transcripción de los genes que codifican

proteínas para pasar luego al procesamiento y corte (splicing) del RNA posteriormente el transporte y traducción y por último el ensamblaje de la proteína, cada cadena se transcribe en su totalidad y los transcriptos mitocondriales son procesados después para generar los diferentes mRNA, tRNA y rRNA mitocondriales (Nussbaum, 2016)

2.7.2 Organización del genoma humano

Todas las células nucleadas a excepción de las que se transforman en gametos se denominan somáticas (soma, cuerpo), el genoma constituido en estas células consta de 46 cromosomas organizados en 23 pares de los cuales 22 son semejantes en hombres y mujeres denominados autosomas y están numerados originalmente en orden por su tamaño aparente desde el más grande al más pequeño, el par restantes está conformado por los cromosomas sexuales un cromosoma “X” y un “Y” en los hombres y dos cromosomas “X” en las mujeres (Nussbaum, 2016).

Un par cromosomal (Cromosomas homólogos) contienen información genética congruente entre sí, por ende, poseen los mismos genes en el mismo orden, sin embargo, en un locus específico los cromosomas idénticos pueden variar ligeramente de secuencia, esta forma diferente del mismo gen se denomina alelo (Nussbaum, 2016).

Las regiones del genoma con características similares tienden a agruparse; y la organización funcional del genoma refleja su organización estructural y secuencia, por ello algunas de las regiones cromosómicas poseen un elevado contenido de genes y otras no, por lo tanto, las anomalías en las regiones ricas en genes tienden a ser más grave clínicamente que las anomalías en regiones cromosómicas pobres en genes (Nussbaum, 2016)

2.7.3 Transcripción y variación del genoma humano

La base cromosómica de la herencia se fundamenta en la copia del genoma y en su transmisión de una célula a su progenie durante la división celular y de una generación a la siguiente durante la reproducción, existen dos tipos de división celular, la mitosis y meiosis, siendo la mitosis la división de las células normales somáticas y la meiosis un tipo de reproducción exclusiva de la línea germinal. Los genes se localizan en todo el genoma, pero tienden a agruparse en regiones particulares del cromosoma y aunque la información genética del ADN se encuentra en el núcleo la síntesis de proteína durante la cual se utiliza la información codificada se realiza en el citoplasma (Nussbaum, 2016).

2.7.4 Variación genética poblacional

La genética de poblaciones es el estudio cuantitativo de la distribución de las variaciones genéticas en distintas poblaciones y de la manera en que las frecuencias de los genes y los genotipos se mantienen o cambian con el tiempo en el seno de una población y entre otras poblaciones distintas, en contexto nos referimos a la frecuencia poblacional de un alelo considerando un conjunto de genes hipotéticos que sería el conjunto de todos los alelos en un determinado locus de toda la población (Gordillo, 2015).

2.8 Genómica nutricional relacionada con la obesidad

El ADN en la especie humana presenta una gran similitud en su genómica ya que es igual en un 99,9% en todos los seres humanos constan de un polímero de nucleótido que a su vez contienen fosfatos y desoxirribosa un segmento de nucleótidos forma un gen los cuales son proclives a sufrir cambios por diferentes factores como ambientales o por delección o inserción de genes, entre otros un cambio en la secuencia de ADN que sea heredable es considerado mutación (Gordillo, 2015).

Al momento de determinar una enfermedad existen varios factores que nos sirven como variables y entre los más importantes están la nutrición y la actividad física, siendo la nutrición la base para optimizar la salud, como nutrientes se considera a las sustancias indispensables para mantener la salud entre los cuales se incluye los carbohidratos, las proteínas, los lípidos, las vitaminas y los minerales (Gordillo, 2015).

La genómica nutricional investiga genes que se relacionen con la dieta y factores de riesgo, los genes investigados se activan durante una enfermedad y son sensibles a modificaciones genéticas; existen cuatro tipos de estudio de genómica nutricional 1. Estudio de genes candidatos que comprenden tanto la asociación del genoma completo como las enfermedades asociadas a las dietas, 2. Genes candidatos para las interacciones entre gen y dieta, 3. Estudios en gemelos y 4. Estudios funcionales (Gordillo, 2015).

2.9 Gen PNPLA3

El gen PNPLA3 se encuentra en el cromosoma 22 (22q13.31) y consta de 9 exones, su longitud de transcripción es de 2805 pb y se traduce en un proteína de 481 aminoácidos; PNPLA3 también es conocido como adiponutrin y pertenece a la familia de proteínas fosfolipasa tipo patatín, se trata de una proteína transmembranal que en humanos está altamente expresada en los hepatocitos (Alyavi, Sobirova, & Karimov, 2014).

Actualmente es conocido que PNPLA3 actúa de forma distinta en diferentes etnias y regiones geográficas con respecto al contenido de grasa hepática y susceptibilidad a la progresión de la enfermedad de HGNA, este polimorfismo de nucleótido único es común en la población hispana y se ha demostrado una relación directa con las enfermedades hepáticas de hasta un 59% (Martínez et al., 2017)

Según Martínez en un estudio publicado en el año 2017 para la revista *Annals of Hepatology*, el polimorfismo documentado de PNPLA3 en la población mexicana tiene una frecuencia de 77% lo que favorece la insuficiencia hepática severa en pacientes con el alelo de riesgo incluso en aquellos con masa corporal más baja y en edades más tempranas (Martínez et al., 2017).

2.10 Mutación

Se la define clásicamente como una alteración en la secuencia del ADN de un individuo y que se trasmite por herencia a sus descendientes, las mutaciones son la mayor fuente de variabilidad genética en todo tipo de organismos ya que tienen lugar en todo el genoma

incluyendo en las secuencias codificantes en células germinales (heredables) y somáticas (no heredables) (Herraez, 2013).

Las mutaciones pueden ser clasificadas de distintas formas debido a que existe gran cantidad de factores implicados, donde los criterios principales de estudio son por su tipo de célula, por su magnitud donde se incluye anomalías cromosómicas, anomalías en secuencias repetidas y por su mecanismo que pueden ser mutaciones endogénicas (espontaneas) y exogenicas (inducidas por mutaciones) (Herraez, 2013).

2.11 Polimorfismo

La secuencia de ADN de una región determinada del genoma es muy similar en los cromosomas de muchos individuos en todo el mundo, sin embargo, en todas las poblaciones humanas se ha identificado y catalogado decenas de millones de diferencias de un solo nucleótido y más de un millón de variantes más complejas, el hecho de que una variante se considere o no un polimorfismo depende por completo de que si su frecuencia en una población supera el 1% de los alelos en esa población (Nussbaum, 2016).

2.11.1 Clasificación de los polimorfismos

En la actualidad la variante génica con más probabilidad de desarrollar afecciones complejas son los polimorfismos de un solo nucleótido, pero a más de esto existen otros tipos de polimorfismo como los polimorfismos que afectan la expresión génica, polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción y polimorfismos en el número de repetición en tándem (Nussbaum, 2016).

Los resultados de los estudios de las variantes genéticas son de suma importancia ya que si la variación es protectora o predisponente a una enfermedad es posible inferir pronósticos de riesgo y con ello se puede preceder a la realización de una intervención desde el punto nutricional y en el estilo de vida lo que resultara en ganancia de años de vida saludables (Nussbaum, 2016).

2.11.2 Polimorfismo de un único nucleótido (SNP)

se trata de los polimorfismos más sencillos y frecuentes de todos, un locus caracterizado por un SNP suele tener solo dos alelos que le corresponden a las dos bases

distintas que ocupan un determinado sitio en el genoma, hasta la fecha se han documentado más de cien mil SNP localizados en exones, alrededor de la mitad de ellos no codifican la secuencia de aminoácidos mientras que la otra mitad que si altera la secuencia de aminoácidos se denomina no sinónimos (Nussbaum, 2016).

2.11.3 Polimorfismo como una respuesta individual ante una dieta

La mayor parte de las enfermedades provienen de un origen multifactorial en donde diferentes individuos y/o poblaciones responden de manera distinta a una misma dieta, el área encargada de investigar este fenómeno se conoce como nutrigenética cuya principal tarea es caracterizar los polimorfismos y holotipos asociados a la respuesta de una dieta y establecer su relación con el proceso salud-enfermedad, se conoce que actualmente el estado de salud de un individuo depende tanto de la integración de la exposición ambiental como de su genoma, los principales factores variables de la exposición ambiental es el estilo de vida, que incluye la nutrición, la actividad física y conducta (Gordillo, 2015).

Se estima que la varianza fenotípica que se atribuye a los genes que predisponen a la obesidad es de 4% al 7% y de manera similar para enfermedades cardiovasculares; los estados patológicos surgen cuando la expresión génica no alcanza a lograr la homeostasis ya sea por

un defecto genético persistente o por las agresiones ambientales a las que es incapaz de adaptarse de manera eficiente (Gordillo, 2015).

2.12 Polimorfismo rs738409

Las asociación del polimorfismo rs738409 con la enfermedad del HGNA se confirma en varios grupos étnicos a excepción de las poblaciones de Asia central donde no se ha evaluado esta asociación, según Alyavi en su estudio publicado en el año 2014 para la *International journal of medicine* la asociación entre el rs738409 y la grasa hepática es independiente de grandes diferencias en la composición corporal, la diabetes y los niveles de lipoproteína del suero (Alyavi et al., 2014)

Este polimorfismo asociado con el HGNA descrito en el 2008, Romero et al. Asoció el alelo variante con el contenido de triglicérido hepático en al menos 10 grupos étnicos determinando así que la sustitución del alelo C (PNPLA3148II) por el alelo G (PNPLA·148MM) presentó un 73% más de contenido de grasa hepática que los sujetos sin dicha sustitución (Hyysalo et al., 2014)

2.13 Diagnóstico molecular

Existe una rama en la genética que se encarga del diagnóstico de enfermedades relacionadas con los genes, se la conoce como genética clínica cuya funcional esencial es realizar el correcto diagnóstico mediante pruebas clínicas y genéticas para encontrar las mutaciones responsables de la enfermedad, además ayudar a la persona afectada y a los familiares para que comprendan y afronten la naturaleza y consecuencia de la enfermedad y proporcionar un tratamiento adecuado a la misma (Nussbaum, 2016).

El asesoramiento genético no se limita al ofrecer información a los individuos con riesgo de padecer la enfermedad, sino que también se encarga de abordar complejas cuestiones psicológicas relacionadas con la presencia de un trastorno genético en una familia y ofrecer una ayuda a las personas para asumir el impacto y adaptarse a la presencia de la enfermedad (Nussbaum, 2016).

2.15 Extracción de ADN

Durante años ha sido de gran interés para los investigadores la complejidad de los procesos biológicos en los seres vivos y descifrar los mecanismos que esconden estos procesos, uno de los descubrimientos más importantes de la historia y que dio inicio a una nueva era fue el descubrimiento de los ácidos nucleicos al descifrar la estructura del ADN (Tamay de Dios, Ibarra, & Velasquillo, 2013).

Hasta la actualidad se han desarrollado métodos cada vez más sensibles y reproducibles que permiten estandarizar protocolos para el estudio de los ácidos nucleicos, entre varias alternativas de estudio sin lugar a duda la más importante es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) desarrollada por Kary Mullis que tiene como función copiar millones de veces una secuencia específica de ADN blanco mediante una poderosa catálisis llevada a cabo por una enzima llamada ADN polimerasa, de esta forma una pequeña cantidad de ADN es sintetizada y copiada para analizarse en diferentes fines (Tamay de Dios et al., 2013).

2.16 Análisis de genes

El estudio de genes tiene muchos aspectos de interés tanto desde el punto de vista básico para obtener información sobre un gen determinado o para aplicar la información obtenida a estudios sobre una enfermedad con fines diagnósticos y terapéuticos, en el análisis de genes el primer paso es la determinación de su ubicación en los cromosomas, esto proporciona una localización más precisa de los genes (Herraez, 2013).

2.15.1 detección del polimorfismo

Para la detección de un polimorfismo existen varios métodos, más aun si se trata de un polimorfismo de un solo nucleótido, experimentos especializados y en continua evolución, la mayor parte de estos métodos se basan en las técnicas de hibridación de PCR donde se trata de diseñar oligonucleótidos complementarios a cada alelo (Herraez, 2013).

El análisis del polimorfismo génico da pie a varias aplicaciones como el caso de los polimorfismos que no tienen efecto fenotípico las cuales son frecuentemente usados para diagnósticos de paternidad y seguimiento de árboles genealógicos y actualmente es muy usado

para obtener información sobre polimorfismos que tienen contribución frente a procesos de interés médico (Herraez, 2013)

2.15.1 PCR en tiempo real

La PCR en tiempo real es una técnica que combina la amplificación y la detección en un mismo paso relacionando el producto de la PCR de cada uno de los ciclos con una señal de intensidad fluorescente, posee un alto rango de detección de 1 a 10^7 equivalentes genómicos de la secuencia blanca y rapidez en la visualización del producto ya que no se necesita una electroforesis posterior (Technologies, 2012).

Para este proceso se requieren reactivos específicos para PCR tiempo real, a más de esto el uso de un fluoróforo, en casos donde se requiera determinar el número de moléculas ARNm es necesario llevar a cabo una reacción de transcripción en reversa (RT) un ensayo también conocido como retro transcripción o RT acoplada a la PCR (RT-PCR), respecto a equipos requeridos para este método incluye un termociclador y una unidad capaz de detectar señales fluorescentes y todo esto trabaja en conjunto con un software especializado para la captura, análisis y procesamiento de los datos (Technologies, 2012).

2.16 Marco referencial

El hígado graso no alcohólico se asocia, frecuentemente, a la diabetes mellitus no insulino dependiente. Esther González, 2016 describe los aspectos bioquímico, ecográfico e histológico en un grupo de pacientes diabéticos no insulino dependientes realizando un estudio descriptivo transversal en el Hospital “Arnaldo Milián Castro” en el período comprendido entre septiembre de 2013 y enero de 2016 con una muestra constituida por 22 pacientes a los que se les realizó determinación del índice cintura/cadera, evaluación analítica y se les precisaron los hallazgos histopatológicos del hígado. Se describieron relaciones entre algunos factores de riesgo de progresión de la enfermedad y los resultados de la biopsia hepática. La glicemia fue el parámetro bioquímico más alterado (81.8%), seguida de la alanina aminotransferasa y el lipograma (77.3% para cada uno); el 68.2% de los pacientes presentó esteatohepatitis con fibrosis; la alanina aminotransferasa se elevó en el 77.3% de los casos con esteatohepatitis y se encontró una asociación significativa entre esta última y el aumento del índice cintura/cadera. Se deben sospechar estadios avanzados del hígado graso no alcohólico en los pacientes diabéticos no insulino dependientes.

Roesch, 2006, dio a conocer la frecuencia, así como las características clínicas, bioquímicas y ultrasonográficas del HGNA en un grupo de sujetos estudiados en la Ciudad de Veracruz, estudiando 337 sujetos, los cuales fueron divididos en cuatro grupos: peso normal, sobrepeso, obesos y diabéticos tipo 2, habiéndose descartado aquellos que refirieron antecedentes de hepatitis o consumo de bebidas alcohólicas. En ellos se realizó una encuesta para determinar: edad, género, existencia de síntomas o signos de enfermedad hepática y a todos se les realizaron estudios de laboratorio que incluyeron: glucemia, perfil de lípidos, transaminasas, proteínas totales y fosfatasa alcalina. En los casos que mostraron elevación de las transaminasas, se realizó ultrasonido (USG) abdominal superior y biopsia hepática a quienes lo aceptaron. Resultados: se identificaron 53 casos (15.72%) con características de HGNA. La frecuencia en los sujetos de peso normal y sobrepeso osciló entre 7.14% y 7.76%, mientras que en los Obesos esta cifra se duplicó a 14.15% y en los pacientes con diabetes alcanzó cifras de 28.0%. El 73.58% de los pacientes con esta entidad fueron mujeres y 26.41% hombres. La edad promedio de todo el grupo fue de 48.11 años, similar a la de los sujetos de peso normal y los obesos; en los pacientes con sobrepeso fue de 61.5 años y en los diabéticos de 56.42 habiendo diferencias significativas en los parámetros de glucosa, colesterol, lípidos totales y transaminasas en los grupos de obesidad y diabetes mellitus comparada con el grupo de pacientes control y con sobrepeso teniendo como resultados una menor frecuencia de HGNA que lo publicado a nivel mundial; sin embargo, fue más elevada en la población de diabéticos que lo encontrado por Bernal, en Hidalgo, México. Las cifras de transaminasas se encontraron elevadas en pacientes con síndrome metabólico y con HGNA. Es de gran importancia tener presente la posibilidad de esta enfermedad en la población que presenta síndrome metabólico, para evitar la progresión a la cirrosis y a hepatocarcinoma (Roesch-Dietlen et al., 2006)

GLOSARIO

ADN: Es el Ácido Desoxirribonucleico es una macromolécula que realiza la codificación de los genes de las células, bacterias y algunos tipos de virus.

Genotipo: Conjunto de los genes que existen en el núcleo celular de cada individuo.

Nucleótido: Compuesto químico orgánico fundamental de los ácidos nucleicos, constituido por una base nitrogenada, un azúcar y una molécula de ácido fosfórico.

Polimorfismo: es una variante genética natural, no tienen efectos adversos en el individuo y se producen con frecuencia bastante alta, aparece en al menos 1% de una población.

Mutación: es una alteración en la secuencia de un nucleótido o en el código genético, específicamente en los genes de los cromosomas.

Cromosomas: se encuentran en forma de estructuras en el centro (núcleo) de las células que transportan fragmentos largos de ADN. El ADN es el material que contiene los genes y es el componente más importante del ser humano.

GEN PNPLA3: Fosfolipasa patatán que contiene la proteína 3, se encuentra en el cromosoma 22.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa, es una técnica de análisis molecular que permite amplificar pequeños fragmentos de ADN para la identificación gérmenes microscópicos que causan enfermedades.

Hepatocitos: es la célula propia del hígado y que forma su parénquima.

HGNA: La enfermedad de hígado graso no alcohólico es la acumulación de grasa en el hígado que NO es causada por consumir demasiado alcohol.

Obesidad: es una enfermedad crónica, caracterizada por el aumento de la grasa corporal, asociada a mayor riesgo para la salud.

HDL: lipoproteínas de alta densidad en inglés. Se lo define como colesterol "bueno" porque transporta el colesterol de otras partes de su cuerpo a su hígado. Su hígado luego elimina el colesterol de su cuerpo.

LDL: lipoproteínas de baja densidad en inglés. Se lo define como colesterol "malo" porque un nivel alto de LDL lleva a una acumulación de colesterol en las arterias.

Dislipidemias: Es la alteración de los niveles de lípidos en la sangre.

Esteatohepatitis: Inflamación grasa del hígado.

Esteatosis: La forma más benigna se denomina Esteatosis simple, en la que sólo se encuentran depósitos de grasa sin otras alteraciones en la biopsia del hígado.

Lípidos: Los lípidos son un conjunto de moléculas que circulan en la sangre, dentro de las que se encuentran el colesterol total, el colesterol LDL, el colesterol HDL y los triglicéridos.

Fibrosis hepática: es la acumulación de cicatrices fibrosas y duras en el hígado.

3 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Justificación del método de elección

El presente estudio es de tipo descriptivo, con un diseño no experimental y de cohorte transversal, ya que las muestras fueron recolectadas y analizadas en un tiempo determinado con un enfoque cuantitativo debido a que se analizaron parámetros antropométricos, bioquímicos y genéticos para determinar la asociación del polimorfismo rs738409 del gen PNPLA3 y la obesidad en jóvenes universitarios con hígado graso no alcohólico

3.2. Población y muestras

La población y muestras estuvo comprendida por 205 jóvenes universitarios con hígado graso no alcohólico de los cuales a 41 se les realizaron los análisis de los parámetros bioquímicos (Proteína C reactiva, triglicéridos, glucosa y colesterol total, HDL y LDL) para su posterior análisis con la presencia del polimorfismo rs738409 del gen PNPLA3 y sus variantes génicas (alelo normal CC, premutado CG y mutado GG).

3.2.1. Criterio de Inclusión

1. Muestras crio conservadas en buenas condiciones de jóvenes universitarios diagnosticado con hígado graso no alcohólico.
2. Muestras que estuvieron con una concentración optima del material genético (0.8 – 2.0) para su proceso de amplificación.

3.2.2. Criterio de Exclusión

1. Muestras que no estuvieron dentro de los parámetros de concentración óptimos para su proceso de amplificación.

3.3. Técnica y Modelos de análisis de datos

3.3.1. Técnica

La técnica utilizada en el presente trabajo de titulación fue la observacional y análisis de base de datos donde se registraron los resultados obtenidos.

3.3.2. Instrumento

Para la recopilación de la información se realizó mediante la observación directa con el apoyo analizador genético (LightCycler 2.0) en las muestras procesadas y registradas en la base de datos.

4. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

4.1 Distribución por sexo

Tabla 1 Distribución por sexo

Sexo	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Femenino	111	(54.1%)	54.1
Masculino	94	(45.9%)	45.9
N=	205	(100.0%)	

Zevallos, 2018

Los datos expresados en la tabla 1 muestra la distribución de la población a estudiar por su sexo de la población estudiada N=205, un 54.1% pertenecen al sexo femenino mientras que un 45.9% al sexo masculino.

4.2 Prevalencia de enfermedades cardiovasculares

Tabla 2 Prevalencia de enfermedades cardiovasculares

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje valido
Si presenta	184	(89.8%)	89.8
No presenta	21	(10.2%)	10.2
N=	205	(100.0%)	100.0

Zevallos, 2018

En relación a la prevalencia de enfermedades cardiovasculares la frecuencia con la que se presentan en la población de estudio es en un 89.8%, siendo considerado un porcentaje bastante alto entre las variables analizadas.

4.3 Obesidad

Tabla 3 Obesidad

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
No presenta	133	(64.9%)	64,9
Si presenta	72	(35.1%)	35,1
N=	205	(100.0%)	100,0

Zevallos, 2018

De acuerdo a los datos analizados se determina la frecuencia con la que la población de estudio presenta obesidad en un 35.1% y no obesidad en un 64.9% en la población con hígado graso no alcohólico.

4.4.Ingesta de alcohol

Tabla 4 Ingesta de alcohol

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
No ingiere	102	(49.8%)	49,8
Solo socialmente	69	(33.7%)	33,7
Ingiere semanal	34	(16.6%)	16,6
N=	205	(100.0)	100,0

Zevallos, 2018

La obesidad y el HGNA son clasificadas como enfermedades multifactoriales por ello para establecer la asociación existente entre ambas variables es necesario descartar que esta enfermedad sea producto de la ingesta de alcohol, por ello se muestra en la tabla 4 la frecuencia con la que ingiere alcohol la población de estudio un 49.8% de los jóvenes de la población declararon no consumir alcohol, un 33.7% declararon ingerirlo solo en reuniones sociales y un 16.6% afirmaron consumir alcohol de forma semanal.

4.5 Variante genética del polimorfismo en la población de estudio

Tabla 5 Variante génica

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Alelo normal CC	42	(20.5%)	20,5
Alelo pre-mutado CG	123	(60.0%)	60,0
Alelo mutado GG	40	(19.5%)	19,5
N=	205	(100.0%)	100,0

Zevallos, 2018

La variante del polimorfismo rs738409 del gen PNPLA3, es vital para poder establecer la asociación existente entre este polimorfismo y la enfermedad de HGNA, los datos obtenidos muestran que un 20.5% en relación al alelo normal (CC), un 60.0% para el alelo pre-mutado (CG) y un 19.5% para el alelo mutado (GG) en la población de estudio.

4.6 Asociación Perfil lipídico / Variante génica

Tabla 6 Asociación perfil lipídico/variante génica

n=41		Variante Génica			Nivel de significancia <i>p</i> =0,05
		Alelo normal (CC)	Alelo Premutado (CG)	Alelo mutado (GG)	
Proteína C reactiva	SI	8(34,8%)	10(43,5%)	5(21,7%)	<i>p</i> =2,380
	NO	3(16,7%)	12(66,7%)	3(16,7%)	
Glucosa (mg/dL)	SI	11(26,8%)	22(53,7%)	8(19,5%)	<i>p</i> =_____
	NO	11(26,8%)	22(53,7%)	8(19,5%)	
Colesterol (mg/dL)	SI	9(23,7%)	21(55,3%)	8(21,1%)	<i>p</i> =2,795
	NO	2(66,7%)	1(33,3%)	—	
Colesterol HDL (mg/dL)	SI	10(31,3%)	16(50,0%)	6(18,8%)	<i>p</i> =1,469
	NO	1(11,1%)	6(66,7%)	2(22,2%)	
Colesterol LDL(mg/dL)	SI	10(25,6%)	21(53,8%)	8(20,5%)	<i>p</i> =,836
	NO	1(50,0%)	1(50,0%)	—	
Triglicéridos(mg/dL)	SI	11(29,7%)	20(54,1%)	6(16,2%)	<i>p</i> =3,312

	NO	0 (0,0%)	2(50,0%)	2(50,0%)	
Enfermedades cardiovasculares	SI	1(9,1%)	4(18,2%)	0(0,0%)	$p=1,946$
	NO	10(90,9%)	18(81,8%)	8(100,0%)	
Obesidad	SI	6(54,5%)	12(54,5%)	2(25,0%)	$p=2,250$
	NO	5(45,5%)	10(45,5%)	6(75,0%)	
Alteraciones Lipídicas	SI	6(54,5%)	12(54,5%)	4(50,0%)	$p=0,054$
	NO	5(45,5%)	10(45,5%)	4(50,0%)	

Zevallos, 2018

De acuerdo a lo observado en el análisis estadístico mediante el *software* SPSS (tabla de 2x2) en relación a las variables de estudio, hígado graso no alcohólico y el polimorfismo del gen PNPLA3 con los parámetros bioquímicos, enfermedades cardiovasculares, Obesidad y alteraciones lipídicas con el genotipo mutado GG y el genotipo premutado CG, no existe una asociación debido que el valor correspondiente a la significancia para el genotipo GG (mutado) está por encima del valor estimado de $p=0,05$.

4.6 Conclusiones

Este análisis de datos determino la relación existente entre la presencia del polimorfismo rs738409 del gen PNPLA3 y la enfermedad del hígado de grasa no alcohólico y las enfermedades subyacentes como la obesidad y el riesgo cardiovascular, además se analizó el perfil lipídico de la muestra de estudio determinando así una ligera asociación con los parámetros bioquímico

La población de estudio fueron 205 muestras amplificadas de jóvenes universitarios diagnosticados con la enfermedad de hígado grasa no alcohólico de los cuales hubo 111 mujeres y 94 hombres, de los cuales 184 presentaron algún tipo de enfermedad cardiovascular determinando así que las enfermedades cardiovasculares son frecuentes en un 89,8% de las personas que padecen esta enfermedad.

A su vez se determinó que la obesidad tuvo una frecuencia de 35.1%, donde de los 205 casos de estudio de los cuales 72 presentaron obesidad, así mismo se analizó como variable la ingesta de alcohol en la cual un 49.8% indico no consumirlo, un 33.7% solo en reuniones sociales y un 16.6% restante indicaron consumirlo de forma semanal, el perfil lipídico mediante el análisis de datos del chi cuadrado mostro que ninguna de los perfiles a analizar (Glucosa,

colesterol total HDL, LDL triglicérido y proteína C reactiva) fueron significativo para el desarrollo de la patología.

El tema principal de este estudio y factor determinante de la enfermedad del hígado graso no alcohólico es la presencia del polimorfismo rs738409 del gen PNPLA3 el cual un 19.5% de los casos estudiado presentaron la variante mutada (GG), un 60% el alelo pre-mutado (CG) y un 20.5% de los casos no se presentó la mutación, determinando así que en un 79.5% de los casos está presente este polimorfismo sea mutado o en su estado pre-mutado.

La parte genética es un factor predominante en el desarrollo y progresión en la enfermedad del hígado graso, la presencia de este polimorfismo pueda dar inicio al desarrollo de esta enfermedad en los individuos pero, al ser una enfermedad multifactorial su desarrollo tendrá siempre una relación directa con el estilo de vida, incluido la alimentación y actividad física, las variables como obesidad, riesgo cardiaco y perfil lipídico anormal están ligadas y se consideran subyacentes a la enfermedad del hígado graso no alcohólico.

4.7 Recomendaciones

A partir de este estudio se logró establecer y cuantificar la asociación que existe entre el rs738409 y la enfermedad de hígado graso y a su vez enfermedades subyacentes que se pueden desarrollar, al ser enfermedades multifactoriales no es posible establecer una sola causa del desarrollo de las mismas, en base a los datos analizados en este estudio se pudo establecer que la parte genética tiene un alto grado de influencia, sin embargo, se requiere de un estudio más profundo para precisar las causas exactas de estas enfermedades así como aumentar el número de caso y realizar la expresión génica del Gen en caso y controles.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alyavi, A., Sobirova, G., & Karimov, M. (2014). Association of rs738409 Polymorphism in the PNPLA3 Gene with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *International Journal of Biomedicine*, 4(4), 8–11. Retrieved from http://www.ijbm.org/articles/Article4%284%29_S1_1.pdf
- Barisio D'Angelo, M. G., Actis, A. M., & Outomuro, D. (2009). ARTÍCULO DE REVISIÓN Hígado Graso no Alcohólico: una entidad cada vez más frecuente y de pronóstico incierto. *Rev Gastroenterol*, 29, 44–50. <https://doi.org/ISSN 1022-5129>
- Caballería, L., Saló, J., Berzigotti, A., Planas, R., Vila, C., Huertas, C., ... Caballería, J. (2014). Hígado graso no alcohólico. Documento de posicionamiento de la Societat Catalana de Digestologia. *Gastroenterologia y Hepatologia*, 37(6), 372–383. <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2014.03.005>
- Castillo, Y. H. (2015). Hígado graso no alcohólico, 31(4), 177–185.
- Cifuentes, R. C., Monteros, R. E. D. L., Franco, J., & Cárdenas, L. A. (2015). Relación entre cardiopatía isquémica y la proteína C reactiva., 9–15.
- Esther, D., González, L., Manuel, V., Mejia, L., Sarah, D., & Díaz, E. (2016). Caracterización analítica e histológica del hígado graso no alcohólico en pacientes diabéticos tipo II, 10(4), 36–45.
- García, Ana LiLén. Rodríguez, A. (2016). Riesgo cardiovascular : Asociación con ingesta de lípidos , actividad física y conductas sedentarias en adultos de la provincia de Córdoba en el año 2015, 76.
- Herraez, A. (2013). Biología molecular e ingeniería genética.

- Hu, W., Yuan, B., & Lodish, H. F. (2014). Cpeb4-Mediated Translational Regulatory Circuitry Controls Terminal Erythroid Differentiation. *Developmental Cell*, 30(6), 660–672. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.07.008>
- Hyysalo, J., Gopalacharyulu, P., Bian, H., Hyötyläinen, T., Leivonen, M., Jaser, N., ... Yki-Järvinen, H. (2014). Circulating triacylglycerol signatures in nonalcoholic fatty liver disease associated with the I148M variant in PNPLA3 and with obesity. *Diabetes*, 63(1), 312–322. <https://doi.org/10.2337/db13-0774>
- Martínez, L. A., Larrieta, E., Calva, J. J., Kershenobich, D., & Torre, A. (2017). The expression of PNPLA3 polymorphism could be the key for severe liver disease in NAFLD in hispanic population. *Annals of Hepatology*, 16(6), 909–915. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0010.5282>
- Moreno, M. (2012). Definición Y Clasificación. *Rev. Med. Clin. Condes*, 23(2), 124–128. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(12\)70288-2](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(12)70288-2)
- Roesch-Dietlen, F., Dorantes-Cuéllar, A., Carrillo-Toledo, M. G., Martínez-Sibaja, C., Rojas-Carrera, S., Bonilla-Rojas, Q. C. S., ... Martínez, J. A. (2006). Frecuencia del hígado graso no alcohólico en un grupo de pacientes con síndrome metabólico estudiado en la ciudad de veracruz. *Revista de Gastroenterología de México*, 71(4), 446–452.
- Santos, L. F., Hernández, G., Varón Puerta, A., Beltrán Galvis, O. A., Botero, R. C., & Mejía, G. (2010). Enfermedad hepática por infiltración grasa no alcohólica: la nueva pandemia del milenio: [revisión]. *Rev. Colomb. Gastroenterol*, 25(2), 380–398. Retrieved from http://www.gastrocol.com/pportal/gastro/revista-vol25-n4/v25n4a10.pdf%5Cnhttp://www.gastrocol.com/pportal/gastro/revista-vol25-n4en/en_v25n4a10.pdf
- Singal, A. G., Manjunath, H., Yopp, A. C., Beg, M. S., Marrero, J. A., Gopal, P., & Waljee, A.

- K. (2014). The effect of PNPLA3 on fibrosis progression and development of hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. *American Journal of Gastroenterology*, 109(3), 325–334. <https://doi.org/10.1038/ajg.2013.476>
- Tamay de Dios, L., Ibarra, C., & Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 2(5), 70–78. <https://doi.org/10.1157/13059826>
- Technologies, Q. A. (2012). PCR en Tiempo Real, (July).
- Torres, G. G., Tatiana, I. V, Sánchez, A., Ojeda, V. D. A., & Vi, M. (2016). Obesity and lipid profile in employees of the National Center of Medical Genetics. *Rev Cubana Genet Comunit*, 10(2), 39–45.
- Vega Abascal, J., Mayra, I., Mosqueda, G., Policlínico, P. A., Ávila, J., & Holguín, S. ". (2011). Riesgo cardiovascular, una herramienta útil para la prevención de las enfermedades cardiovasculares Cardiovascular risk, a useful tool for prevention of cardiovascular diseases. *Revista Cubana de Medicina Integral*, 27(1), 91–97. Retrieved from <http://scielo.sld.cu>
- Zavala, E., & Reyes, E. (2010). Hígado Graso No Alcohólico. *REVISTA DE LA ESCUELA DE MEDICINA "DR. JOSÉ SIERRA FLORES" UNIVERSIDAD DEL NORESTE*, 24, 28–32.
- Barisio, M. A. (2009). Hígado graso no alcohólico: una entidad cada vez mas frecuente y de pronóstico incierto. *Gastroenterol*, 44-50. Recuperado el mayo de 2017, de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rgp/v29n1/a07v29n1.pdf>
- Carvajal, C. C. (2017). Síndrome metabólico: definiciones, epidemiología, etiología, componentes y tratamiento. *Medicina Legal de Costa Rica*.

Clara Silvana Weiler Miralles, L. M. (2015). Razón Cintura-Estatura (RCA) y los triglicéridos en comparación con el HDL-C (TG / HDL-C): como predictores de riesgo cardiometabólico. *Scielo*.

EnriqueGalve, C. G. (2016). Consenso sobre los objetivos y pautas de actuación en el control del colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad en pacientes de muy alto riesgo cardiovascular. *ClínicalKey*.

González, E. L. (2016). Caracterización analítica e histológica del hígado graso no alcohólico en pacientes diabéticos tipo II. *Acta Médica del Centro*, 1.

Gordillo, D. G. (2015). *Nutrición molecular*. Barcelona : Mc Graw Hill. doi:978-607-15-1271-0

Guadalupe Echeverría, A. R. (2017). Impacto de la dieta mediterránea sobre las lipoproteínas de alta densidad. *REVISTA CHILENA DE CARDIOLOGIA*.

Gutiérrez, S. C. (2016). Diagnóstico molecular en microbiología Clínica. *Pediatrka*.

Maillo, C. M. (Febrero de 2017). Circadian- and UPR-Dependent control of CPEB4 mediates a translational response to counteract hepatic steatosis under ER stress. *Nature Cell Biology*, 19(2), 94-116. doi:10.1038/ncb3461

María Navarro, M. M. (2017). LIPOPROTEÍNA DE BAJA DENSIDAD PEQUEÑA Y DENSA Y RIESGO CARDIOVASCULAR EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO. . *Comunidad y salud*.

Nussbaum, L. M. (2016). *Genética en medicina* (8ava ed.). Barcelona: Elsevier.

ANEXOS

Técnica de procedimiento:

Para la obtención del material genético se utilizó el siguiente protocolo.

Protocolo de amplificación

- 1.- Calentar el bloque térmico a 55°C.
- 2.- Al tubo estéril adicionar <200 ul de sangre.
- 3.- Adicionar 20ul de Proteinasa K a la muestra.
- 4.- Adicionar 20ul RNase a la muestra, mezcle bien vortexeando brevemente e incube a temperatura ambiente por 2 minutos.
- 5.- Adicionar 200ul del Buffer de Lisis/ Binding, vortexeando bien para obtener una solución homogénea.
- 6.- Incubar a 55°C por 10 minutos para promover la digestión de proteínas.
7. - Adicionar 200 ul de etanol (96 – 100%) para lisar. Mezcle bien por vortex por 5 segundos para que rinda una solución homogénea.
- 8.- Proceder inmediatamente a la captura del DNA.

Antes de empezar

Adicionar ethanol 96–100% ethanol al PureLink® Genomic Wash Buffer 1 and PureLink® Genomic Wash Buffer 2 de acuerdo a las indicaciones marcadas en cada etiqueta. Marcar las etiquetas cuando ya ha sido adicionado el ethanol. Guardar ambos Buffer a temperatura ambiente.

9.- Remover del paquete de tubos 1 columna

10.- Adicionar el lisado (640ul) en la columna

11.- Centrifugar la columna a 10.000 x g por 1 minuto a temperatura ambiente.

12.- Descartar el tubo de colección y colocar un tubo de colección limpio.

13.- Proceder a enjuagar el DNA.

Lavado de DNA

14.- Adicionar 500ul de Buffer Wash 1, preparado con ethanol a la columna.

15. Centrifugar la columna a temperatura ambiente a 10.000 x g por 1 minuto.

16. Descartar el tubo de colección y colocar un tubo limpio.

17. Adicionar 500 µL Wash Buffer 2 preparado con ethanol a la columna.

18.-Centrifugar la columna a la velocidad máxima por 3 minutos a temperatura ambiente.

Descartar el tubo de colección

19. Proceder a la elución del DNA.

Elución de DNA

20. Coloque la columna en un tubo estéril de microcentrífuga de 1.5ml.

21. Adicionar 25–200 μL of PureLink® Genomic Elution Buffer a la columna. Observe los parámetros de elusión (page 13) para elegir el adecuado volumen de elusión que se necesita.

22. Incubar a temperatura ambiente por 1 minuto. Centrifugar la columna a máxima velocidad por 1 minuto a temperatura ambiente. El tubo contiene el DNA genómico purificado.

23. Para recuperar más DNA, realice un Segundo paso de elusión usando el mismo volumen de buffer de elusión como la primera vez en otro tubo estéril de 1.5ml.

24. Centrifugar la columna a máxima potencia por 1.5 minutos a temperatura ambiente. El tubo contiene el DNA purificado. Descartar la columna.

Almacenaje del DNA

Guardar el DNA purificado a -20°C para la aplicación deseada.

Para la amplificación del material genético se utilizaron los siguientes equipos y materiales

Equipos:

PCR en tiempo real.

Regulador de voltaje con no-break.

Computadora con el programa de análisis instalado.

Materiales:

Guantes de nitrilo libres de polvo.

Tubos o placas.

PCR de 200 µl de calidad óptica.

Puntas nuevas estériles de 10 y 100 µl.

Micropipetas de alta precisión de 20 µl y 200 µl.

Gradilla para tubos PCR.

Reactivos.

Tabla:

Condiciones de la mezcla para el PRE-MIX de PCR

Preparación de la reacción		Ajustes
20 ul de mezcla de la reacción.		LightCycler 1.x & 2.0 instrumentos
Agua	14.4 – 10.4 ul	LightCycler 1. X Instrumento: canal F1
Mezcla del reactivo	1.4 ul	LightCycler 2.0 Instrumento: canal 530
FastStart ADN Master	2.0 ul	
MgCl₂ (25 mM)	1.6 ul	
ADN	1.0 – 5.0 ul (- 50 mg)	
Concentración final MgCl₂: 3.0 mM		

LightCycler FastStart ADN Master HybProbe (Dignóstico Roche)

Tabla:

Programa LightCycler 1.x / 2.0 Instrumentos

Programa	Desnaturalización	Ciclismo			Derritiendo			Enfriamiento
Parámetro								
Modo de análisis	Ninguna	Cuantificación			Curvas de Fusión			Ninguna
Ciclos	1	45			1			1
Segmento	111	1	2	3	1	2	3	1
Objetivo(° C)	95	95	60	72	95	40	85	40
Retener (hh: mm: ss)	00:10:00	00:00:10	00:00:15	00:00:20	00:00:20	00:00:20	00:00:00	00:00:30
Velocidad de rampa (° C / s)	20.0	20.0	20.0	0.2	20.0	20.0	0.2	20.0
Modo de adquisición	Ninguna	Ninguna	Solo	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Continuo	Ninguna
		a		a	a	a	o	

LightCycler FastStart ADN Master HybProbe (Dignóstico Roche)