

Mtra. María Elena Contreras Garfias
 Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud
 PRESENTE

Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes :

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año
--------------------	-----	-----	-----	---------------------	-----	-----	-----

Datos del Alumno

Nombre :	
Matrícula :	Licenciatura :
Domicilio :	
Teléfono :	Celular :
Correo Electrónico :	CURP :

Datos del Proyecto

Nombre del Proyecto :							
Lugar donde se realizó el Servicio Social :							
Dependencia :							
Entidad Federativa :							
Municipio :	Localidad :						
Fecha de Inicio	Día	Mes	Año	Fecha de Término	Día	Mes	Año

PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES

Sector: _____ Tipo: _____

Orientación: _____

FIRMAS

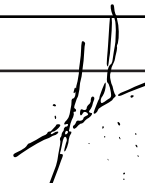


Asesor Interno
 Nombre, firma y No. Económico

No. eco.
 34568



Alumno
 Nombre, firma



Asesor Externo
 Nombre, firma y No. Económico

Cedula Prof.
 08801494

Vo. Bo. de la Comisión
 Nombre y firma de la persona que autoriza



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



Instituto Nacional de
Medicina Genómica
MÉXICO

Ciudad de México a 05 de septiembre de 2022

Oficio No: INMG-DED-SFA-508-2022

Asunto: Carta de término de servicio social

Mtra. María Elena Contreras Garfías

Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Universidad Autónoma Metropolitana

Unidad Xochimilco

Presente

Por este medio hago constar que la estudiante **José Manuel Hernández Díaz**, con número de matrícula **2183072882**, de la carrera en Químico Farmacéutico Biológico, ha concluido una estancia académica de servicio social bajo la tutoría de la Dra. Guadalupe León Reyes, Investigadora en Ciencias Médicas del Consorcio de Enfermedades Óseas del INMEGEN.

El periodo de su estancia fue del 10 de enero al 31 de agosto de 2022, cubriendo un total de 480 horas sin goce de sueldo.

Agradeciendo de antemano su atención a la presente, le envío un cordial saludo.

Atentamente



Lic. Alejandra Elizabeth Rangel Barajas

Responsable del Programa de Participación Estudiantil

Dra. Guadalupe León Reyes.-Investigadora en Ciencias Médicas del INMEGEN y Tutora del estudiante.-Presente.

C.c.p.





SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



Instituto Nacional de
Medicina Genómica
MÉXICO

Ciudad de México a 09 de Agosto del 2022.

Mtra. María Elena Contreras Garfias
DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

PRESENTE

Por medio de la presente me permito comunicar a usted que el alumno: Hernandez Díaz José Manuel (matricula: 2183072882), de la carrera Químico Farmaceutico Biólogo, de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, concluyó el proyecto de servicio social tituado: *“Asociación de la variante rs56371916 del gen ADCY5 con el perfil de lípidos en plasma, en un estudio de cohorte de adultos mexicanos”*, que se realizó en el Instituto Nacional de Medicina Genómica del 03 de Enero del 2022 al 04 de Julio del 2022 bajo mi asesoría, cubriendo un total de 480 horas.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.



Atentamente

Dra. Guadalupe León Reyes
Investigadora en Ciencias Médicas “C”
Instituto Nacional de Medicina Genómica

Ciudad de México., a 09 de agosto de 2022

MTRA. MARÍA ELENA CONTRERAS GARFIAS
DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
PRESENTE

Por medio de la presente me permito comunicar a usted que el alumno: **Hernández Díaz José Manuel** con matrícula: 2183072882, concluyó el proyecto de servicio social titulado: ***Asociación de la variante rs56371916 del gen ADCY5 con el perfil de lípidos en plasma, en un estudio de cohorte de adultos mexicanos***, que se realizó en el Instituto Nacional de Medicina Genómica, del 03 de enero de 2022 al 04 de julio del 2022 bajo mi asesoría cubriendo un total de 480 horas.

ATENTAMENTE



Dra. María Angélica Gutiérrez Nava
Profesora Investigadora Titular
No. Económico 34568



Ecología ^{XOCHIMILCO}
Microbiológica
LABORATORIO

UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

Departamento de Sistemas Biológicos

INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA GENÓMICA

Laboratorio de Genómica del Metabolismo Óseo

“Asociación de la variante rs56371916 del gen *ADCY5* con el perfil de lípidos en plasma, en un estudio de cohorte de adultos mexicanos”

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE

Químico Farmacéutico Biólogo

P R E S E N T A

José Manuel Hernández Díaz

Matrícula: 2183072882

Dra. María Angélica Gutiérrez Nava
Asesora Interna

No. Económico: 34568

Dra. Guadalupe León Reyes
Asesora Externa

No. de cédula profesional: 08801494



Periodo de realización: 03 enero del 2021 al 04 de Julio del 2022.

ÍNDICE

I. Lista de Abreviaturas	3
II. Lista de Tablas.....	4
III. Lista de Figuras	4
1 INTRODUCCIÓN.....	5
2 MARCO TEORICO.....	5
2.1 Dislipidemias	5
2.2 Factores de riesgo externos	6
2.3 Factores de riesgo genéticos	7
2.4 Gen <i>ADCY5</i>	7
2.5 La variante genética rs56371916 del gen <i>ADCY5</i>	7
3 HIPÓTESIS	8
4 JUSTIFICACIÓN	8
5 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	9
6 OBJETIVOS	9
6.1 Objetivo General.....	9
6.2 Objetivos Particulares.....	9
7 MATERIALES Y METODOS	10
7.1 Población de estudio	10
7.2 Evaluación de medidas antropométricas	10
7.3 Análisis bioquímico	10
7.4 Obtención de DNA y genotipificación	11
7.5 Análisis estadístico	11
7.6 Consideraciones éticas.....	11
8 RESULTADOS.....	12
8.1 Características clínicas y demográficas de la población de estudio.....	12
8.2 Características clínicas de la población de estudio Estratificadas por sexo.....	12
8.3 Características clínicas de la población de estudio estratificada por sexo y genotipo de la variante rs56371916.....	13
8.4 Asociación de la variante rs56371916 del gen <i>ADCY5</i> con el perfil de lípidos por sexo.....	14
9 DISCUSIÓN.....	16
10 CONCLUSIÓN	18
REFERENCIAS.....	19
ANEXOS.....	22
A. Cronograma de trabajo.	22
B. Preparación de la muestra de DNA para genotipificación.	23
C. Protocolo de genotipificación por PCR Tiempo Real.	24

I. Lista de Abreviaturas

ABCA1:	ATP Binding Cassette Subfamily A Member 1
ADCY5:	Adenylyl cyclase type 5
AMPc:	Adenosin Monofosfato Cíclico
ATP:	Adenosín Trifosfato
ATP-III:	Adult Treatment Panel-III
DM-2:	Diabetes Mellitus Tipo-2
ECTS:	Estudio de Cohorte de Trabajadores de la Salud
ECV:	Enfermedades Cardiovasculares
ENSANUT:	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
GWAS:	Genome Wide Association Studies
HDL-c:	High Density Lipoprotein Cholesterol
IMSS:	Instituto Mexicano del Seguro Social
LDL-c:	Low Density Lipoprotein Cholesterol
MAF:	Minor Allele Frequency
OR:	Odds Ratio
SNP:	Single Nucleotide Polymorphism
SREBP:	Sterol Regulatory Element-Binding Proteins

II. Lista de Tablas

Tabla 1. Criterios de selección de los participantes del ECTS.....	10
Tabla 2. Características clínicas y demográficas de la población de estudio categorizada por sexo	13
Tabla 3. Características de la población de estudio por sexo y genotipo.....	14
Tabla 4. Asociación de la variante rs56371916 con el perfil de lípidos	15
Tabla 5. Asociación del perfil de lípidos por genotipo y sexo.....	16

III. Lista de Figuras

Figura 1: Dislipidemias en la población Mexicana	6
Figura 2: Dislipidemias en la población de estudio.....	12

1 INTRODUCCIÓN

Las dislipidemias son alteraciones del metabolismo de lípidos que se definen como cantidades anormales de lípidos y/o lipoproteínas en la sangre [1]. Estas alteraciones están estrechamente relacionadas con mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (ECV), diabetes mellitus tipo-2 (DM-2), accidente cerebrovascular y síndrome metabólico [2]. Las dislipidemias más comunes en la población mexicana son los niveles elevados de lipoproteínas de baja densidad (LDL-c por sus siglas en inglés), seguido de niveles bajos de lipoproteínas de alta densidad (HDL-c), hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia; con prevalencias reportadas del 56.1%, 55.2%, 47.4% y 30.6% respectivamente, y con diferencias por sexo y grupos de edad [3]. Estudios epidemiológicos han demostrado que el estilo de vida y los factores genéticos influyen en los niveles de lípidos en suero [4]. Estudios en grupos de familias han estimado un rango de heredabilidad del 28% al 78% para diferentes alteraciones lipídicas [5]. Además, se ha demostrado que la diversidad étnica puede introducir diferencias en la frecuencia de alelos de riesgo, que conducen a una predisposición potencial a desarrollar enfermedades o una respuesta alterada al tratamiento [6].

Estudios previos han mostrado que el gen Adenilato Ciclasa tipo 5 (*ADCY5* por sus siglas en inglés), regula la señalización del receptor acoplado a proteína G, a través de la síntesis del mensajero metabólico adenosin monofosfato cíclico (AMPc, por sus siglas en inglés). Este gen tiene funciones pleiotrópicas respecto al metabolismo de lípidos, glucosa y densidad mineral ósea [7, 8]. Previamente, en un estudio de Asociación del Genoma Completo (GWAS, por sus siglas en inglés), se demostró que la variante intrónica rs56371916 en el gen *ADCY5*, tiene una función importante en el riesgo de desarrollar DM-2, alteraciones en el metabolismo de lípidos y un incremento en el riesgo de fractura [7]. Adicionalmente, en un GWAS multiétnico, este locus se asoció con niveles alterados de HDL-c y colesterol total [6]; lo que sugiere su papel en el metabolismo de lípidos. Por lo tanto, dilucidar el impacto de este polimorfismo de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) rs56371916 del gen *ADCY5* en población Mexicana, resulta de gran importancia clínica para personas con alto riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares y alteraciones metabólicas.

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue analizar la asociación de la variante rs56371916 del gen *ADCY5* con el perfil de lípidos en plasma en un estudio de cohorte de adultos mexicanos.

2 MARCO TEORICO

2.1 Dislipidemias

Las dislipidemias son alteraciones del metabolismo de lípidos, que conlleva cambios en su concentración normal en la sangre. De acuerdo con los criterios de la Adult Treatment Panel-III (ATP-III),

dichas alteraciones son: niveles altos de colesterol total ≥ 200 mg/dL, LDL-c ≥ 100 mg/dL, hipertriglicéridemia ≥ 150 mg/dL y niveles bajos de HDL-c (<40 mg/dL en hombres y <50 mg/dL en mujeres) [2].

Las dislipidemias son enfermedades multifactoriales, que tienen un impacto directo sobre el riesgo de ECV [4,10]. El riesgo se ve potenciado, si además hay otras alteraciones metabólicas como la hipertensión arterial y obesidad; ya que éstas generan un efecto sinérgico sobre el riesgo cardiovascular [1,11]. De acuerdo con datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT-2016), la prevalencia de estas alteraciones metabólicas es $\geq 50\%$ [7] (Figura 1).



Figura 1. Infografía sobre dislipidemias en la población Mexicana (Datos obtenidos de ENSANUT-2016 [7]).

2.2 Factores de riesgo externos

Entre los factores mas importantes que predisponen a padecer dislipidemias, se encuentran en el estilo de vida no saludable, como el sedentarismo, la dieta hipercalórica, la ingesta elevada de grasas y azúcares refinados, así como el consumo excesivo de bebidas alcoholicas [12-13]. Además, la presencia de comorbilidades como la DM-2, la insuficiencia renal crónica, el hipotiroidismo, y la cirrosis hepática, incrementan su frecuencia y severidad [8].

2.3 Factores de riesgo genéticos

Además de los factores externos, los factores genéticos tienen un efecto potencial en el riesgo de padecer alteraciones metabólicas. Se ha estimado que la herencia genética de dislipidemias, es la causa de aproximadamente un 30% de su prevalencia en la población Latina [9]. Por lo tanto, estudiar estos factores en la población Mexicana, representan una área de especial interés clínico.

Previamente, se han estudiado diversos genes asociados al metabolismo de lípidos, y se ha demostrado que las mutaciones en estos genes, predisponen a padecer hipertriacilgliceridemia, hipercolesterolemia o bajos niveles de HDL-c en la población Mexicana [14-15]. Se ha demostrado que la incidencia elevada de dislipidemias es atribuida en gran parte por la carga genética en poblaciones mestizas como la nuestra [10]. Por lo tanto, la caracterización de las mutaciones que modulan significativamente el transporte plasmático de los lípidos, contribuye a la comprensión del origen de las dislipidemias [11].

2.4 Gen *ADCY5*

Recientemente se ha demostrado que el gen *ADCY5* está asociado con el metabolismo de lípidos; sin embargo, no se conoce con exactitud el papel que tiene en el perfil de lípidos de la población Mexicana. El gen *ADCY5*, se localiza en el brazo largo del cromosoma 3 (3q21.1) y codifica para la enzima Adenilato ciclasa 5 [12]. Esta enzima participa en la conversión del Adenosín Trifosfato (ATP) en AMPc. Investigaciones previas han identificado que las mutaciones en este gen pueden elevar la actividad enzimática del adenilato ciclasa 5 y en consecuencia elevar las concentraciones de AMPc en las células, lo que se denomina “mutación de ganancia de función” [13]. Por ello, el impacto de los SNP del gen *ADCY5* tienen funciones pleiotrópicas (un solo gen o alelo es responsable de efectos fenotípicos distintos), que van desde proteger contra DM-2, hasta aumentar su riesgo [14, 28-33]. Adicionalmente, se han observado que las variantes de este gen inducen la codificación de diferentes isoformas de una misma proteína [7].

2.5 La variante genética rs56371916 del gen *ADCY5*

Estudios previos han descrito una asociación significativa de la variante intrónica rs56371916 en el gen *ADCY5*, con el metabolismo de ácidos grasos en adipocitos maduros y osteoblastos (células del hueso encargadas de sintetizar la matriz ósea) [13]. Recientemente se ha reportado que el alelo C del SNP rs56371916 reemplaza un nucleótido timina por una citosina. Este cambio altera la afinidad de unión de la proteína de unión a los elementos reguladores de esteroides (*SREBP*, por sus siglas en inglés) y conduce a la expresión diferencial del gen *ADCY5* [12]. Los *SREBP* son factores de transcripción conocidos por desempeñar un papel activador en la biosíntesis de colesterol y ácidos grasos [15]. Por lo

tanto, la modificación del SNP rs56371916 conduce a una disminución de la actividad de estos factores de transcripción [12].

3 HIPÓTESIS

El SNP rs56371916 del gen *ADCY5* está asociado con mayor riesgo de desarrollar dislipidemias en población adulta Mexicana.

4 JUSTIFICACIÓN

Las dislipidemias son alteraciones metabólicas que conllevan a una alteración en su metabolismo y/o concentración en la sangre. Su presencia representa un factor de riesgo para desarrollar enfermedades metabólicas como DM-2, síndrome metabólico o ECV, principalmente [1]. En México, de acuerdo a lo reportado por ENSANUT-2016, las dislipidemias más frecuentes son, niveles altos de LDL-c, niveles bajos de HDL-c, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, cuya prevalencia varía entre hombres y mujeres [3].

Entre los factores de riesgo se encuentran el estilo de vida poco saludable como la alimentación no saludable, el consumo excesivo de alcohol o tabaco y la poca actividad física. Además, las variantes genéticas asociadas a genes que intervienen sobre el metabolismo de lípidos, también representan un riesgo potencial para el desarrollo de dislipidemias.

Estudios recientes, han demostrado que el SNP rs56371916 del gen *ADCY5* está asociado con el metabolismo de lípidos, principalmente en la disminución de la actividad en la biosíntesis de colesterol y ácidos grasos en adipocitos. Sin embargo, su papel en perfil lipídico de la población Mexicana, no se ha estudiado. Por lo tanto, conocer el impacto potencial de esta variante en nuestra población, resulta de gran importancia clínica para personas con alto riesgo de sufrir dislipidemias, enfermedades cardiovasculares y alteraciones metabólicas.

5 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

- ¿Existe asociación de riesgo entre variante rs56371916 del gen *ADCY5* con el perfil de lípidos en plasma en adultos mexicanos?

6 OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

- Evaluar la asociación de la variante rs56371916 del gen *ADCY5* con el perfil de lípidos en plasma en un Estudio de Cohorte de Adultos Mexicanos.

6.2 Objetivos Particulares

1. Evaluar si los niveles plasmáticos de lípidos son afectados por los genotipos del polimorfismo rs56371916 del gen *ADCY5* en los individuos de la Cohorte de Estudio de Trabajadores de la Salud.
2. Evaluar si la asociación de la variante rs56371916 tiene una influencia dependiente de sexo sobre el perfil de lípidos.

7 MATERIALES Y METODOS

7.1 Población de estudio

Este estudio se desarrolló con datos provenientes de un Estudio de Cohorte de Trabajadores de la Salud (ECTS), enfocado en el estudio de la influencia genética y factores ambientales asociados a enfermedades crónicas de la población Mexicana. Los participantes de este estudio son trabajadores médicos, académicos y administrativos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), ubicado en Cuernavaca, Morelos.

En este proyecto se incluyeron datos de 1,927 individuos provenientes de la segunda etapa de recolección de muestra (2010 – 2012). Los criterios de selección se detallan en la **Tabla 1**, y el cronograma de actividades se detalla en el **Anexo A**.

Tabla 1. Criterios de selección de los participantes del ECTS.

Criterios de inclusión
<ul style="list-style-type: none">● Individuos mayores de 18 años con datos clínicos y demográficos completos.● Individuos con muestra de suero y DNA disponible.● Individuos con una tasa de respuesta de las variables de dieta mayor al 70%.● Individuos que hayan firmado el consentimiento informado.
Criterios de exclusión
<ul style="list-style-type: none">● Individuos con datos clínicos, demográficos o dietarios incompletos.● Individuos con datos faltantes de genotipo.● Individuos que no hayan firmado el consentimiento informado.
Criterios de eliminación
<ul style="list-style-type: none">● Individuos que decidan retirarse del estudio.

7.2 Evaluación de medidas antropométricas

Los datos antropométricos se obtuvieron a partir de un cuestionario autoadministrado; en el cual, los participantes proporcionaron información detallada sobre su peso, edad, dieta, actividad física, ingesta de alcohol, tabaco y medicamentos, entre otros [16].

7.3 Análisis bioquímico

Se obtuvieron muestras de sangre venosa de cada participante en ayuno de 8 horas, para la determinación clínica del perfil de lípidos y glucosa. La glucosa plasmática se midió con el método de

glucosa oxidada. Los triglicéridos con el método colorimétrico después de la hidrólisis enzimática realizada con la técnica de la lipasa. Los niveles de LDL-c y HDL-c se determinaron por el método de depuración [1]. Todos los ensayos biomédicos se realizaron con el instrumento Selectra XL (Randox Laboratories Ltd, Antrim, Reino Unido), de acuerdo con los lineamientos de la Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio para las buenas prácticas de laboratorio. Los niveles elevados de lípidos se definieron de acuerdo con los criterios del ATP-III: colesterol total >200 mg/dL, triglicéridos >150 mg/dL, LDL-c >100 mg/dL, HDL-c <40 mg/dL para hombres y <50 mg/dL para mujeres [1].

7.4 Obtención de DNA y genotipificación

El DNA se extrajo a partir de sangre periférica total utilizando el kit Gentra Puregene Blood (Qiagen, número de catálogo 158389), siguiendo las instrucciones del fabricante. La determinación de genotipos del polimorfismo rs56371916 (C_787878) se realizó mediante ensayos TaqMan SNP Genotyping (Applied Biosystems, Massachusetts; MA, EE. UU.) (**Anexo B y C**), en un sistema de PCR en tiempo-Real QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR (Applied Biosystems, Massachusetts, MA, EE. UU.). La asignación de los genotipos de la variante se realizó mediante el software SDS versión 2.2.1.

7.5 Análisis estadístico

Para el análisis descriptivo se estratificó a la población por sexo y genotipo del SNP rs56371916. 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 SNP rs56371916 con cada parámetro lipídico (triglicéridos, colesterol total, LDL-c y HDL-c) mediante modelos de regresión logística. Para estimar la asociación entre la variante genética y las dislipidemias, 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 índice de masa corporal (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 $P < 0.05$.

7.6 Consideraciones éticas

Este estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki. El protocolo del estudio y el consentimiento informado fueron aprobados por los Comités de Ética, Investigación y Bioseguridad del IMSS (No. 12CEI 09 006 14). Todos los participantes firmaron el consentimiento informado.

8 RESULTADOS

8.1 Características clínicas y demográficas de la población de estudio

En este estudio se incluyeron 1927 participantes, de los cuales el 69.7% fueron mujeres. En la población total, se observó una prevalencia del 73.6% para niveles altos de LDL-c, 60% para niveles altos de HDL-c, 52.8% para hipertriglicéridemia y 46.4% para hipercolesterolemia (**Figura 2**).

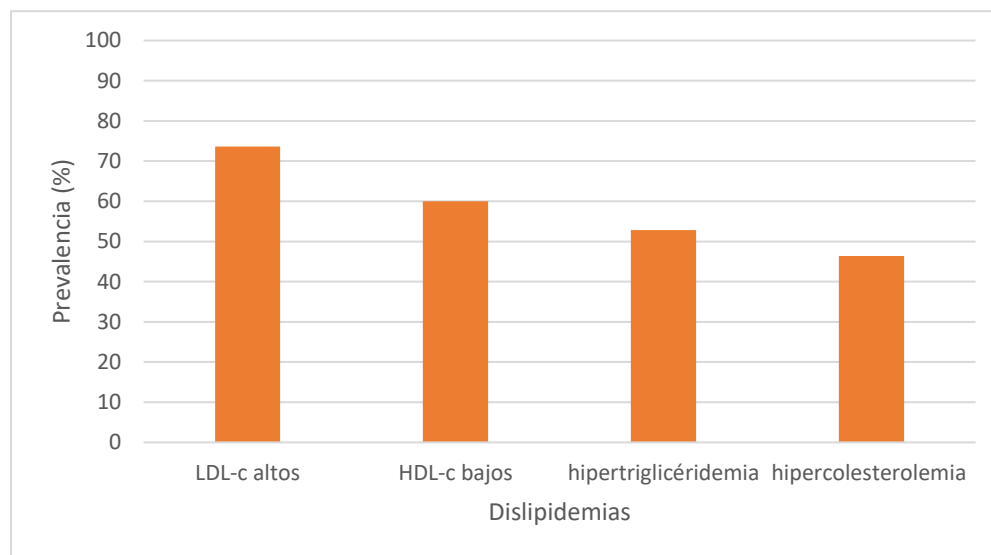


Figura 2: Prevalencia de dislipidemias en la población de estudio.

8.2 Características clínicas de la población de estudio estratificada por sexo

Cuando categorizamos los datos clínicos y demográficos de la población de estudio por sexo, observamos que los hombres presentaron niveles más altos de triglicéridos en comparación con las mujeres (168 mg/dL vs 150 mg/dL, $P < 0.001$). A diferencia de los niveles de colesterol total, HDL-c y LDL-c, que estuvieron más elevados en las mujeres (Colesterol total: 191 mg/dL vs 199 mg/dL, $P < 0.001$; HDL-c: 39 mg/dL vs 46 mg/dL, $P < 0.001$; LDL-c: 111.3 mg/dL vs 121.3 mg/dL $P < 0.001$). Adicionalmente, estos hallazgos correlacionaron con las prevalencias de dislipidemias entre hombres y mujeres (triglicéridos: 58.5% vs 50.4% $P < 0.001$; Colesterol total alto: 49% vs 40.5%, $P < 0.001$; LDL-c alto: 63.5% vs 51.8% $P < 0.001$; HDL-c bajo: 63.5% vs 51.8% $P < 0.001$).

Por otra parte, también observamos que los hombres tuvieron mayor consumo de energía dietaria que las mujeres (1944 kcal/día vs 1687 kcal/día, $P < 0.001$); sin embargo, las mujeres presentaron mayor consumo de carbohidratos y proteínas (Carbohidratos: 64.7% vs 66.6%, $P < 0.001$; Proteínas: 12.5% vs 23 %, $P = 0.040$) (**Tabla 2**).

Tabla 2. Características clínicas y demográficas de la población de estudio categorizada por sexo.

Característica	Hombres n=583	Mujeres n=1,344	<i>P</i>
Edad (años) ^{a,b}	46 (36-56)	54 (43-63)	<0.001
IMC (kg/m ²) ^{a,b}	26.6 (24.2-29)	26.8 (24-30.1)	0.162
Colesterol total en suero (mg/dL) ^{a,b}	191 (168-221)	199 (172-227)	<0.001
Colesterol total alto (%)	40.5	49	0.006
HDL-c (mg/dL) ^{a,b}	39 (34-46)	46 (39-54)	<0.001
Niveles bajos de HDL-c (%)	51.8	63.5	<0.001
Triglicéridos en suero (mg/dL) ^{a,b}	168 (119-247)	150 (109-201)	<0.001
Triglicéridos altos (%)	58.5	50.4	0.001
LDL-c (mg/dL) ^{a,b}	111.3 (96.7-144)	121.3 (99.5-146.7)	0.005
Niveles altos de LDL-c (%)	51.8	63.5	<0.001
Tratamiento hipolipemiente (%)	11.2	13.5	0.165
Dieta			
Consumo de energía (kcal/día) ^{a,b}	1944 (1467-2528)	1687 (1261-2212)	<0.001
Carbohidratos (% energía) ^{a,b}	64.7 (58.3-70.5)	66.6 (60.6-71.9)	<0.001
Proteínas (% energía) ^{a,b}	12.3 (10.6-14.0)	12.5 (10.9-14.2)	0.040
Grasa total (% energía) ^{a,b}	17.4 (14.0-21.0)	17.6 (14.2-21.2)	0.497

^a Media ^b P25-P75. Abreviaturas: IMC, índice de masa corporal HDL-c, lipoproteínas de alta densidad ,LDL-c, lipoproteínas de baja densidad .Se consideraron parámetros de colesterol, HDL-c, triglicéridos y LDL-c de acuerdo con los parámetros del ATP-III. Estadísticamente significativo *P* < 0.05.

8.3 Características clínicas de la población de estudio estratificada por sexo y genotipo de la variante rs56371916

Cuando analizamos los datos demográficos por sexo y genotipo de la variante rs56371916 del gen *ADCY5*, observamos que los hombres portadores de al menos un alelo de riesgo (TC +TT) presentaron una concentración menor de colesterol total y HDL-c, en comparación con las mujeres (colesterol total: 194 mg/dL vs 187 mg/dL, *P*=0.0116; HDL-c: 40.2 mg/dL vs 38.8 mg/dL, *P*<0.005). Las mujeres no presentaron diferencias significativas en ningún parámetro del perfil de lípidos ante la presencia de al menos un alelo de riesgo (T) (**Tabla 3**).

Tabla 3. Características de la población de estudio por sexo y genotipo.

Característica	Hombres, n=583			Mujeres, n=1344		
	TT n=259	TC+CC n=324	P	TT n=573	TC+CC n=771	P
Edad (años) ^{a,b}	46 (37-57)	46 (35-56)	0.523	53 (42-63)	54 (43-63)	0.261
IMC (kg/m ²) ^{a,b}	26.7 (24.3-28.9)	26.5 (24.1-29.2)	0.930	29.9 (23.9-30.4)	26.8 (24.1-29.9)	0.861
Sobrepeso (%)	51.4	47.2	0.313	37.9	42.5	0.089
Obesidad (%)	18.2	20.4	0.505	27.1	24.9	0.362
Tabaquismo						
actualmente (%)	24.7	18.9	0.090	9.6	8.9	0.661
anteriormente (%)	40	39.8	0.960	22.8	24.4	0.495
ALT (U/L) ^{a,b}	25 (19-34)	25 (19-35)	0.794	20 (15-27)	20 (16-29)	0.301
AST (U/L) ^{a,b}	24 (21-31)	26 (21-32)	0.324	23 (19-29)	24 (20-30)	0.116
Colesterol total (mg/dL) ^{a,b}	194 (172-227)	187 (164-217)	0.011	199 (174-227)	198 (171-227)	0.886
HDL-c (mg/dL) ^{a,b}	40.2 (35-47)	38.8 (33.7-44.4)	0.002	45.3 (39.7-53.8)	46.1 (39-54)	0.815
LDL-c (mg/dL) ^{a,b}	117 (98-144)	115 (94-143)	0.273	121 (100-146)	121 (99-147)	0.849
Triglicéridos (mg/dL) ^{a,b}	169 (115-250)	168 (123-240)	0.552	149 (108-203)	152 (109-199)	0.809
Triglicéridos altos (%) ^{a,b}	56.8	60	0.435	49.4	51.1	0.538
Ingesta energética (kcal/día) ^{a,b}	2048 (1548-2658)	1900 (1442-2439)	0.060	1698 (1272-2278)	1676 (1235-2174)	0.259
Carbohidratos (kcal/día) ^{a,b}	321.9 (242-417)	305.2 (233.5-403.1)	0.450	286.6 (205.2-374.2)	272.8 (204.5-366.3)	0.323
Proteína (% energía) ^{a,b}	12.5 (10.9-14.0)	12.2 (10.3-14.1)	0.166	12.4 (10.9-14.2)	12.6 (11.0-14.2)	0.712
AGM (% energía) ^{a,b}	8.7 (7.1-10.4)	8.2 (6.7-10.1)	0.053	8.6 (7.1-10.3)	8.6 (7.0-10.4)	0.886
AGP (% energía) ^{a,b}	4.2 (3.5-5.0)	4.0 (3.4-4.9)	0.155	4.2 (3.5-4.9)	4.2 (3.5-5.0)	0.346
Alcohol (g/día) ^{a,b}	3.2 (0.8-7.9)	2.4 (0.3-7.3)	0.030	0.8 (0-2.2)	0.6 (0-1.7)	0.141

Abreviaturas: IMC, índice de masa corporal, AFTM, Actividad física en el tiempo libre, ALT, Alanina aminotransferasa, AST, Aspartato aminotransferasa, AGM, Ácidos grasos monoinsaturados, AGP, ácidos grasos poliinsaturados, ^a media ^b Percentil 25-75, *P*<0.05.

8.4 Asociación de la variante rs56371916 del gen *ADCY5* con el perfil de lípidos por sexo.

Cuando analizamos la asociación entre del alelo de riesgo rs56371916-C con el perfil de lípidos en la población de estudio clasificada por sexo, observamos en el grupo de hombres una tendencia hacia

un efecto de riesgo para los niveles bajos de HDL-c en el modelo de herencia dominante (OR=1.33, IC95%= 0.95-1.88 $P = 0.097$), aditivo (OR=1.27, IC95%= 0.99-1.63 $P=0.060$) y codominante (OR=1.62 IC95%= 0.94-2.79 $P=0.082$). Interesantemente, en el grupo de mujeres, observamos una tendencia hacia un efecto protector para niveles altos de colesterol total con el modelo de herencia recesivo (OR= 0.73, IC 95%= 0.53-1.01, $P=0.059$) y codominante (OR=0.74 IC95%= 0.52-1.05 $P=0.09$) (Tabla 4).

Tabla 4. Asociación de la variante rs56371916 con el perfil de lípidos.

Modelo	Hombres				Mujeres			
	Colesterol total alto	HDL-c bajo	Triglicéridos altos	LDL-c altos	Colesterol total alto	HDL-c bajo	Triglicéridos altos	LDL-c altos
	OR (IC 95%)	OR (IC 95%)	OR (IC 95%)	OR (IC 95%)	OR (IC 95%)	OR (IC 95%)	OR (IC 95%)	OR (IC 95%)
<i>Aditivo</i>	0.93 (0.73-1.19)	1.27 (0.99-1.63)	1.03 (0.80-1.33)	0.94 (0.72-1.23)	0.90 (0.77-1.06)	1.08 (0.91-1.28)	1.02 (0.87-1.20)	0.91 (0.76-1.09)
<i>P</i>	0.569	0.060	0.830	0.647	0.208	0.360	0.766	0.313
<i>Codominante</i>								
TT*								
TC	0.85 (0.59-1.23)	1.26 (0.88-1.81)	1.27 (0.87-1.86)	0.74 (0.50-1.10)	1.03 (0.81-1.30)	1.00 (0.78-1.28)	1.06 (0.83-1.34)	1.00 (0.76-1.31)
<i>P</i>	0.396	0.211	0.209	0.14	0.838	0.98	0.659	0.972
CC	0.93 (0.54-1.59)	1.62 (0.94-2.79)	0.90 (0.52-1.55)	1.07 (0.58-1.95)	0.74 (0.52-1.05)	1.24 (0.86-1.79)	1.03 (0.73-1.45)	0.78 (0.53-1.15)
<i>P</i>	0.784	0.082	0.694	0.834	0.090	0.249	0.876	0.212
<i>Recesivo</i>								
TT+TC*								
CC	1.00 (0.60-1.67)	1.45 (0.87-2.41)	0.80 (0.47-1.34)	1.24 (0.70-2.18)	0.73 (0.53-1.01)	1.24 (0.88-1.75)	1.00 (0.72-1.38)	0.76 (0.55-1.12)
<i>P</i>	0.993	0.159	0.387	0.457	0.059	0.224	0.999	0.185
<i>Dominante</i>								
TT*								
TC+CC	0.87 (0.62-1.23)	1.33 (0.95-1.88)	1.17 (0.82-1.67)	0.81 (0.55-1.17)	0.95 (0.76-1.19)	1.05 (0.83-1.33)	1.05 (0.84-1.31)	0.94 (0.72-1.21)
<i>P</i>	0.427	0.097	0.377	0.255	0.652	0.662	0.678	0.623

*Genotipo de referencia. Modelos ajustados por edad, índice de masa corporal, hipolipemiantes, actividad física, estatus de fumador, y consumo de energía. Estadísticamente significativo $P<0.05$.

Cuando realizamos el análisis cuantitativo, en el grupo de hombres observamos una asociación de protección contra los niveles altos de colesterol total bajo el modelo aditivo (β : -0.03 IC95%: -0.050, 0.004, $P=0.022$), codominante (β : -0.05 IC95%: -0.08,-0.01 $P=0.010$) y dominante (β : -0.04, IC95%: -0.08,-0.01, $P=0.007$). También observamos que esta variante se asoció con la disminución de los niveles de HDL-c con el modelo aditivo (β : -0.04, IC 95%: -0.07,-0.02 $P=0.001$), codominante (β : -0.06, IC 95%: -0.10,-0.03 $P=0.001$) y dominante (β : -0.06, IC 95%: -0.10,-0.03 $P=0.0004$).

En el grupo de las mujeres observamos una tendencia hacia el efecto protector para los niveles altos de colesterol total en el modelo codominante (β : -0.03, IC 95%: -0.06,0.01, $P=0.059$) y una asociación significativa con los niveles de LDL-c con el modelo codominante (β : -0.05, IC 95%: -0.10,-0.004 $P=0.032$) y recesivo (β : -0.05, IC 95%: -0.09,-0.01 $P=0.021$) (Tabla 5).

Tabla 5. Asociación del perfil de lípidos por genotipo y sexo.

Modelo	Hombres				Mujeres			
	Colesterol total	HDL-c	Triglicéridos	LDL-c	Colesterol total	HDL-c	Triglicéridos	LDL-c
	β (IC 95%)	β (IC 95%)	β (IC 95%)	β (IC 95%)	β (IC 95%)	β (IC 95%)	β (IC 95%)	β (IC 95%)
<i>Aditivo</i>	-0.03 (-0.05,-0.004)	-0.04 (-0.07,-0.02)	-0.002 (-0.06,0.06)	-0.01 (-0.04,0.02)	-0.01 (-0.03,0.004)	-0.008 (-0.03,0.01)	-0.0004 (-0.03,0.03)	-0.02 (-0.04,0.003)
<i>P</i>	0.022	0.001	0.958	0.558	0.151	0.393	0.984	0.095
<i>Codominante</i>								
<i>TT*</i>								
TC	-0.05 (-0.08,-0.01)	-0.06 (-0.10,-0.03)	0.05 (-0.04,0.14)	-0.04 (-0.09,0.01)	-0.001 (-0.02,0.02)	0.002 (-0.025,0.030)	-0.001 (-0.05,0.05)	0.0009 (-0.03,0.03)
<i>P</i>	0.010	0.001	0.323	0.091	0.951	0.858	0.958	0.958
CC	-0.04 (-0.09,0.01)	-0.07 (-0.13,-0.01)	-0.04 (-0.17,0.09)	0.01 (-0.07,0.08)	-0.03 (-0.06,0.003)	-0.02 (-0.06,0.02)	0.00001 (-0.07,0.07)	-0.05 (-0.10,-0.004)
<i>P</i>	0.119	0.016	0.549	0.867	0.074	0.241	1.000	0.032
<i>Recesivo</i>								
<i>TT+TC*</i>								
CC	-0.02 (-0.07,0.03)	-0.04 (-0.09,0.02)	-0.06 (0.19,0.06)	0.03 (-0.04,0.10)	-0.03 (-0.06,0.001)	-0.02 (-0.06,0.01)	0.007 (-0.07,0.07)	-0.05 (-0.09,-0.01)
<i>P</i>	0.463	0.162	0.325	0.444	0.059	0.188	0.984	0.021
<i>Dominante</i>								
<i>TT*</i>								
TC+CC	-0.04 (-0.08,-0.01)	-0.06 (-0.10,-0.03)	0.03 (-0.06,0.11)	-0.03 (0.08,0.01)	-0.008 (-0.03,0.01)	-0.004 (-0.03,0.02)	-0.001 (-0.05,0.05)	-0.01 (-0.04,0.02)
<i>P</i>	0.007	0.0004	0.555	0.185	0.483	0.778	0.966	0.460

*valor de referencia. Modelos ajustados por edad, índice de masa corporal, hipolipemiantes, actividad física, estatus de fumador, consumo de energía. Los lípidos fueron transformados logarítmicamente, los valores significativos se tomaron a partir de $P<0.05$.

9 DISCUSIÓN

De acuerdo con estudios epidemiológicos, la población mexicana tiene una alta susceptibilidad a desarrollar dislipidemias y trastornos metabólicos, con diferencias significativas entre hombres y mujeres [7]. Los factores genéticos juegan un papel importante en la susceptibilidad de un individuo a desarrollar enfermedades metabólicas. Por lo tanto, estudiar variantes genéticas asociados a trastornos lipídicos,

podría ayudar a identificar nuevos objetivos terapéuticos para pacientes que están en riesgo de desarrollar estas enfermedades. En este proyecto se analizó la asociación de la variante genética rs56371916 del gen *ADCY5* con el perfil lipídico de una población de cohorte mexicana. Nosotros observamos un efecto pleiotrópico de esta variante con el riesgo de presentar bajos niveles de HDL-c y un efecto de protección contra altos niveles de colesterol total. Interesantemente, esta asociación fue exclusiva del grupo de hombres adultos Mexicanos.

En la población de estudio, nosotros observamos una alta incidencia de sobrepeso y obesidad combinada con hábitos poco saludables como el tabaquismo, la baja actividad física y la alta ingesta de energía, factores que predisponen a padecer trastornos metabólicos [17]. También observamos que la población de estudio tuvo alta prevalencia de niveles altos de LDL-c, bajos niveles de HDL-c, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia; lo cual concuerda con lo descrito por ENSANUT 2012 para nuestra población [3,18].

Debido a que los factores genéticos juegan un papel determinante en la aparición de alteraciones metabólicas, diversos estudios han demostrado que las variantes genéticas están asociadas con el metabolismo de lípidos, y algunas de ellas son significativamente relevantes en la población Mexicana [3]. En este contexto, la FAM para de la variante rs56371916-C del gen *ADCY5* en la ECTS fue del 35 %, similar a lo reportado en la base de datos de 1000 Genomas para la población Mexicana (38%). La presencia de esta variantes difiere alrededor del mundo, su frecuencia va del 31% en población Americana, del 8% en población Africana y no está presente en la población Asiática; por lo tanto, la población Mexicana se encuentra entre las poblaciones con mayor frecuencia de este alelo.

Nuestros resultados mostraron que la variante rs56371916, tuvo una asociación de riesgo para bajos niveles de HDL-c ($\beta = -0.06$, $P = 0.0004$) y un efecto protector para niveles altos de colesterol total ($\beta = -0.04$, $P = 0.007$), únicamente en hombres. En el grupo de mujeres no se observó asociación significativa con ningún parámetro del perfil de lípidos.

El gen *ADCY5* es conocido por sus funciones pleiotrópicas, principalmente se ha asociado con los niveles elevados de glucosa en ayunas, DT2 [19-20], secreción de insulina [21], obesidad [22] y el síndrome metabólico [23]. Hoffman y colaboradores, en un estudio de GWAS realizado en diferentes grupos étnicos, demostraron que el gen *ADCY5* también desempeña un papel importante en el metabolismo de lípidos, asociado principalmente con las concentraciones plasmáticas de HDL-c y colesterol total [6,24].

Recientemente, la variante rs56371916 se ha relacionado con la interacción metabólica entre la hiperglucemia y la densidad mineral ósea, así como en los procesos de oxidación de lípidos en adipocitos y osteoblastos [12]. Adicionalmente, en un estudio reciente utilizando el modelo de ratones knockout *ADCY5*^{-/-}, se reportó diferencias significativas en el perfil sérico de colesterol total y HDL-c entre ratones macho y hembra [25].

Aunque el mecanismo exacto de la asociación entre la variante rs56371916 con el metabolismo de lípidos no se conoce con certeza, nosotros podríamos especular sobre su posible interacción, de acuerdo con lo reportado en la literatura. El gen *ADCY5* codifica para la proteína adenilato ciclasa 5, que regula la señalización del receptor acoplado a proteína G a través de la síntesis de AMPc [12]. La literatura ha informado que el AMPc juega un papel clave en la lipólisis en los adipocitos durante el ayuno y el estrés, controlando la liberación de ácidos grasos libres en el torrente sanguíneo [26]. Previamente, se ha documentado que el AMPc juega un papel fundamental en la modulación de la unión de la apoproteína APOA1 y la actividad del ATP Binding Cassette Subfamily A Member 1 (ABCA1), que regula los niveles de HDL-c en circulación [27]. Por lo tanto, podemos especular que la variante rs56371916 en *ADCY5* podría alterar la producción de AMPc a lo largo de la expresión diferencial del gen *ADCY5*, alterando el metabolismo de los lípidos y los niveles de colesterol total y HDL-c; como se ha señalado anteriormente [12]. Sin embargo, son necesarias más investigaciones para corroborar este mecanismo.

La diferencia de los efectos de la variante rs56371916 sobre las mujeres en comparación al de los hombres, podría ser consecuencia de los estrógenos, pues esto concuerda con investigaciones donde se ha sugerido que los estrógenos pueden ayudar en el manejo de dislipidemias [18,28].

10 CONCLUSIÓN

En conclusión, el presente trabajo demuestra que el alelo C de la variante rs56371916 del gen *ADCY5* se asocia con alteraciones en el perfil lipídico; principalmente con las concentraciones plasmáticas de HDL-c y colesterol total, y su efecto está asociado únicamente en hombres adultos Mexicanos. Este estudio puede ser particularmente importante en personas en etapas subclínicas de la enfermedad o con un riesgo elevado de desarrollar dislipidemias y alteraciones metabólicas como síndrome metabólico, DM-2 y ECV.

REFERENCIAS

- [1] M. NO, «Norma Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2012, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias.» *Re. Mex. Cardiol.*, vol. 23, pp. 91-124, 2012.
- [2] F. Mach, C. Baigent, A. L. Catapano, K. C. Koskinas, M. Casula y L. Badimon, «ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk,» *Eur Hearth Journal*, pp. 111-88, 2020.
- [3] C. Hernández-Alcaraz, C. Aguilar-Salinas, K. Mendoza-Herrera, A. Pedroza-Tobías, S. Villalpando, T. Shamah-Levy, J. Rivera-Dommarco, M. Hernández-Ávila y S. Barquera, «Dyslipidemia prevalence, awareness, treatment and control in Mexico: results of the Ensanut 2012,» *salud pública de méxico*, pp. 137-146, 2019.
- [4] B. Rivas-Gomez, P. Almeda-Valdés, M. Tussié-Luna y C. Aguilar-Salinas, «Dyslipidemia in Mexico a call for action,» *Revista de Investigación Clínica*, pp. 211-216, 2018.
- [5] S. Kathiresan, A. K. Manning, S. Demissie, R. D'Agostino, A. Surti y C. Guiducci, «A genome-wide association study for blood lipid phenotypes in the Framingham Heart Study,» *BMC Med Genet*, 2007.
- [6] T. J. Hoffmann, E. Theusch y T. Haldar, « A large electronic-health-record-based genome-wide study of serum lipids,» *Nat Genet*, pp. 401-413, 2018.
- [7] L. Aguilera-Nieto, J. Ferrero-Turrión, M. Mora-Ramírez, R. Calvo-Medina, C. Ruiz-García y M. Ramos-Fernández, «Discinesia asociada a ADCY5 en la infancia: a propósito de una familia y revisión actualizada,» *Neurología*, vol. 71, nº 2, pp. 69-73, 2020.
- [8] A. Cuevas y R. Alonso, «Dislipidemia Diabetica,» *Rev. Med. Clin. Condes*, vol. 27, nº 2, pp. 152-159, 2016.
- [9] H. Lippke-Vega, Tratamiento detetico-nutricional en pacientes con dislipidemia, Guayaquil: Escuela Superior Politecnica del Litoral, 2013.
- [10] S. Monroy Villalobos, J. Orantes y R. Sánchez, Relación de las dislipidemias y el aumento de peso(sobrepeso y obesidad) en los pacientes entre las edadesde 20 a 50 años, que consultan en la unidad de salud las chinamas, en el periodo de junio a septiembre del año 2010., Santa Ana El Salvador: Universidad de El Salvador, 2010.
- [11] J. Fernández-Travieso, «Consideraciones genéticas sobre las dislipidemias y la aterosclerosis,» *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, vol. 39, nº 3, pp. 161-172, 2008.
- [12] N. Sinnott-Armstrong, I. S. Sousa, S. Laber, E. Rendina-Ruedy, S. E. Nitter-Dankel, T. Ferreira, G. Mellgren, D. Karasik, M. Rivas, J. Pritchard, A. R. Guntur y R. D. Cox, «A regulatory variant at 3q21.1 confers an increased pleiotropic risk for hyperglycemia and altered bone mineral density,» *Cell Metab*, pp. 615-628, 2021.
- [13] D. Hodson , R. Mitchell , L. Marselli , T. Pullen , S. Brias , F. Semplici , K. Everett , D. Cooper , M. Bugliani y P. Marchetti , «ADCY5 Couples Glucose to Insulin Secretion in Human Islets,» *Diabetes*, vol. 63, nº 1, pp. 3009-3021, 2014.
- [14] J. Pereira-Rodríguez, D. Peñaranda-Florez, A. Reyes-Saenz, K. Caceres-Arevalo y Y. Cañizarez-Pérez, «Prevalence of cardiovascular riskfactors in Latin America: a reviewof the published evidence 2010-2015,» *Revista Mexicana de Cardiología*, pp. 125-139, 2015.
- [15] J. Windholz , P. Kovacs , A. Tönjes , K. Dittrich , S. Blüher , W. Kiess , M. Stumvoll y A. Körner , «Effects of Genetic Variants in ADCY5, GIPR, GCKR and VPS13C on Early

- Impairment of Glucose and Insulin Metabolism in Children,» *PLoS ONE*, vol. 6, nº 1, pp. 201-221, 2011.
- [16] E. Denova-Gutiérrez, S. Castañón, J. Talavera, M. Flores, N. Macías y S. Rodríguez-Ramírez, «figshare,» Self-administered questionnaires for the Health Workers Cohort Study, 2016. [En línea]. Available: <https://figshare.com/s/845932f47669d682102d?file=7186736>. [Último acceso: 2022].
- [17] N. Arráiz-Rodríguez, «Alteraciones en genes del metabolismo lipídico y enfermedad cardiovascular,» *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, vol. 26, nº 1, pp. 1-9, 2007.
- [18] E. Rangel-Baltazar, L. Cuevas-Nasu, S. Rodríguez-Ramírez, T. Shamah-Levy, I. Méndez-Gómez-Humarán y J. Rivera, «Association between High Waist-to-Height Ratio and Cardiovascular Risk among Adults Sampled by the 2016 Half-Way National Health and Nutrition Survey in Mexico (ENSANUT MC 2016),» *Nutrients*, vol. 11, nº 6, p. 1402, 2019.
- [19] J. Dupuis, C. Langenberg, R. Saxena, I. Prokopenko, N. Soranzo, A. Jackson, E. Wheeler, N. Glazer, N. Bouatia-Naji, A. Gloyn, C. Lindgren, R. Mägi, A. Morris, J. Randall, T. Johnson, P. Elliott y D. Rybin, «New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk,» *Nat. Genet.*, vol. 42, nº 2, pp. 105-116, 2010.
- [20] C. Fuchsberger, J. Flannick, T. Teslovich, A. Mahajan, V. Agarwala, K. Gaulton, C. Ma, P. Fontanillas, L. Moutsianas, D. McCarthy, M. Rivas, J. Perry, X. Sim y T. Blackwell, «The genetic architecture of type 2 diabetes,» *Nature*, vol. 536, nº 7614, pp. 41-47, 2016.
- [21] T. Dayeh, A. Olsson, P. Volkov, P. Almgren, T. Rönn y C. Ling, «Identification of CpG-SNPs associated with type 2 diabetes and differential DNA methylation in human pancreatic islets,» *Diabetologia*, vol. 56, nº 5, pp. 1036-1046, 2013.
- [22] A. Knigge, N. Klötting, M. Schön, A. Dietrich, M. Fasshauer, D. Gärtner, T. Lohmann, M. Dreßler, M. Stumvoll, P. Kovacs, M. Blüher y J. Eckel, «ADCY5 Gene Expression in Adipose Tissue Is Related to Obesity in Men and Mice,» *PLoS One*, vol. 10, nº 3, pp. 1-12, 2015.
- [23] F. Lakbakbi, H. Charoute, I. Morjane, H. Rouba, A. Ainahi, M. Kandil, H. Benrahma y A. Barakat, «Association analysis of genetic variants with metabolic syndrome components in the Moroccan population,» *Curr Res Transl Med*, vol. 65, nº 3, pp. 121-125, 2017.
- [24] N. Defer, M. Best-Belpomme y J. Hanoune, «Tissue specificity and physiological relevance of various isoforms of adenylyl cyclase. Am J Physiol Renal Physiol,» *Am J Physiol Renal Physiol*, pp. 400-416, 2000.
- [25] S. Dommel, A. Hoffmann, C. Berger, M. Kern, N. Klötting, A. Kannt y M. Blüher, «effects of Whole-Body Adenylyl Cyclase 5 (Adcy5) Deficiency on Systemic Insulin Sensitivity and Adipose Tissue,» *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, nº 1, 2021.
- [26] J. Dupuis, J. Diagram, C. Langenberg, I. Prokopenko, R. Saxena, N. Soranzo, A. Jackson, E. Wheeler, N. Glazer y N. Bouatia-Naji, «New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk,» *Nat. Genet.*, vol. 42, nº 1, pp. 105-116, 2010.
- [27] N. Srivastava, A. Cefalu, M. Aversa y S. Srivastava, «Rapid degradation of ABCA1 protein following cAMP withdrawal and treatment with PKA inhibitor suggests ABCA1 is a short-lived protein primarily regulated at the transcriptional level,» *J Diabetes Metab Disord*, vol. 19, nº 1, pp. 363-371, 2020.

- [28] A. Sánchez-Arias, M. E. Bobadilla-Serrano, B. Dimas-Altamirano, M. Gómez-Ortega y G. González-González, «Enfermedad cardiovascular: primera causade morbilidad en un hospital de tercer nivel,» *Revista Mexicana de Cardiología*, pp. 98-102, 2016.
- [29] P. Miguel-Soca, «Dislipidemia,» *Temas De Salud*, vol. 20, nº 6, pp. 265-273, 2009.
- [30] D. Hodson, R. Mitchel, L. Marsell, T. Pullen, S. Brias, F. Semplici, K. Everett y D. Cooper, «ADCY5 Couples Glucose toInsulin Secretion in Human Islets,» *Diabetes*, vol. 63, nº 1, p. 3009–3021, 2014.
- [31] . D. Goodman, S. Hulley, L. Clrak, C. Davis, V. Fuster y J. LaRosa, «Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults,» *Arch Intern Med*, vol. 1, nº 148, pp. 36-39, 1988.
- [32] F. Mach, C. Baigent, A. Catapano, K. Koskinas, M. Casula, L. Badimon, J. Chapman, G. De Backer, V. Delgado, B. Ference, I. Graham, A. Halliday, U. Landmesser, B. Mihaylova, T. Pedersen, G. Riccardi, D. Richter, M. Sabatine, M. Taskinen, L. Tokgozoglu y O. Wiklund, «2019 ESC/EAS Guidelines for the management,» *European Heart Journal*, vol. 10, nº 1, pp. 1-78, 2019.
- [33] S. Kunstmann y R. De Grazia, «Puesta al dia en el manejo de las dislipidemias,» *Rev. Med. Clin. Condes*, vol. 6, nº 23, pp. 681-687, 2012.

ANEXOS

A. Cronograma de trabajo (Enero – Julio 2022).

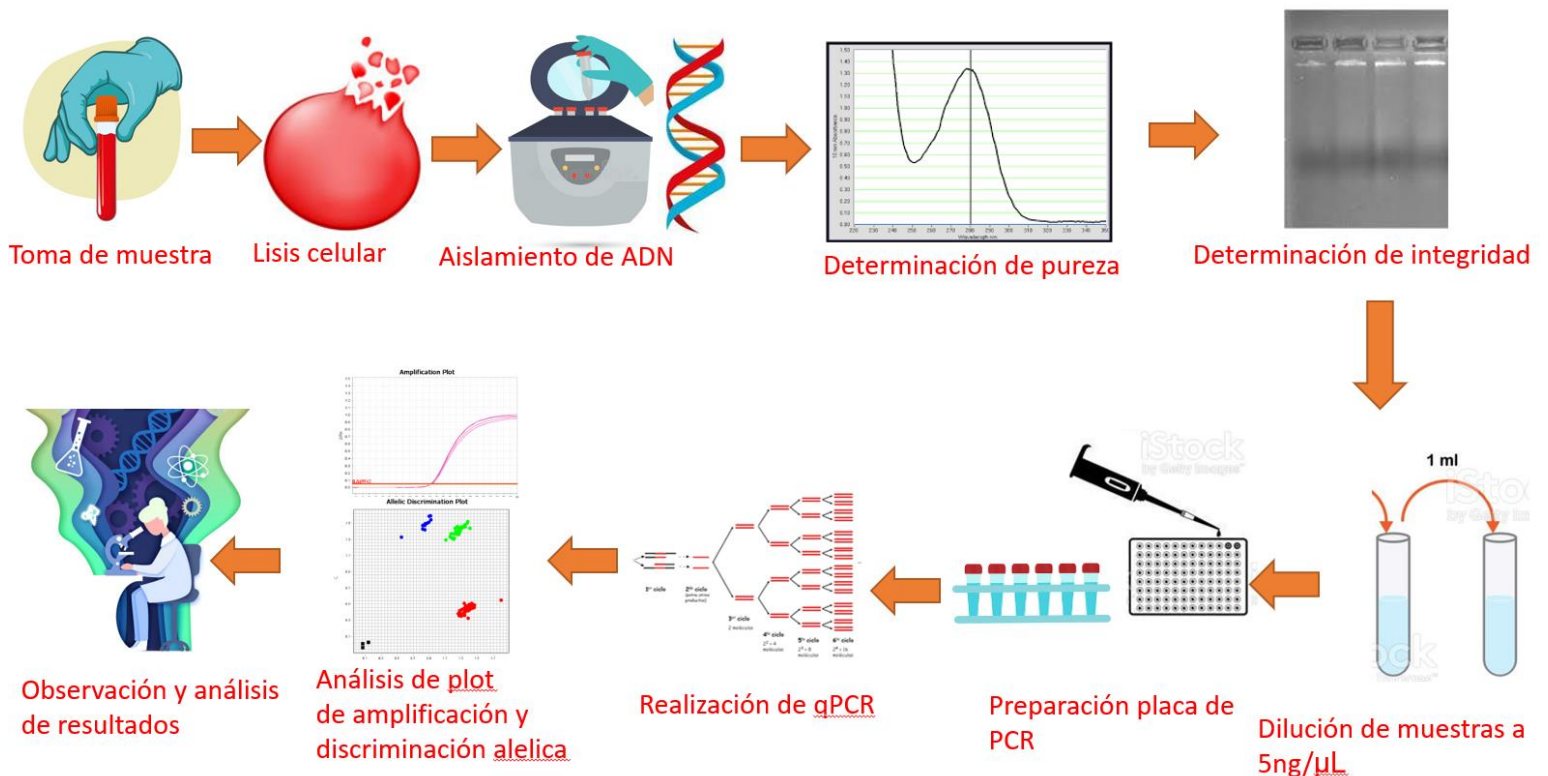
Actividad	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio
1. Implementación de buenas prácticas de laboratorio, manejo de micropipetas.	X	X	X	X	X		
2. Extracción de DNA.	X	X	X				
3. Cuantificación de muestras y diluciones.	X	X	X				
4. Genotipificación de la variante.			X	X	X		
5. Compilación de resultados y análisis estadístico.					X	X	
6. Revisión bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X
7. Escritura de reporte final	X	X	X	X	X	X	X

B. Preparación de la muestra de DNA para genotipificación.

La muestra de ADN se extrajo por medio del kit Gentra Puregene Blood (Applied Biosystems) de acuerdo a los lineamientos del fabricante. Se determinó la integridad de la muestra de ADN por medio la técnica de electroforesis en gel de agarosa. Además, se determinó la pureza y cuantificación de cada muestra de DNA a través de espectrofotometría en NanoDrop, y se consideró la relación A260/A280 en un rango de 1.8 -2.0.

Una vez que las muestras cumplieron con las condiciones antes mencionadas, se realizó una dilución serial hasta obtener una alícuota 5ng/μL para su genotipificación por PCR en Tiempo Real (Figura B1).

Figura B1: Diagrama de flujo de la preparación de la muestra



C. Protocolo de genotipificación por PCR Tiempo Real.

Reactivos

- Master Mix Genotyping (Applied Biosystems)
- Sonda rs56371916 (Applied Biosystems)
- Muestras de DNA
- Alcohol 70°

Materiales y Equipos

- Juego de pipetas de 10 μ L, 200 μ L y 1000 μ L
- Puntas para pipeta de 10 μ L, 200 μ L y 1000 μ L
- Placa de 96 pozos para PCR
- Vortex
- Centrífuga
- Película de sellado de placas
- QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR
- Software SDS
- Computadora
- Recipiente de desechos biológicos

Procedimiento

1. Limpiar el área de trabajo.
2. Rotular un microtubo de 1.5 mL y rotular como “master mix”
3. Tomar 494 μ L del Master Mix Genotyping y agregarlos al microtubo “master mix”
4. Tomar 6 μ L de Sonda rs56371916 y agregarlos al microtubo “master mix” (**Tabla C1**)
5. Con una pipeta de 10 μ L tomar un volumen de 5 μ L del “master mix” y agregar a cada pozo de la placa de PCR.
6. Agregar cada muestra al pozo correspondiente y agitar con vortex durante 5 segundos.
7. Agregar un volumen de 5 μ L de muestra de DNA en un pozo de la placa de PCR.
8. Repetir los pasos 6 y 7 para cada muestra, respetando los espacios en la placa de PCR para los controles positivos, negativos y NTC.

9. Sellar la placa de PCR con una película de sellado de microplacas, cuidando que esté correctamente tapada, sin que existan burbujas en la superficie.
10. Centrifugar brevemente la placa de PCR para homogeneizar la mezcla.
11. Llevar la placa al equipo QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR.
12. En el equipo abrir el software SDS y seleccionar un nuevo ensayo.
13. En la pestaña "Experiment Properties" Poner el nombre de acuerdo al formato "Fecha_PlacaN°_Sonda".
14. Seleccionar el equipo QuantStudio 7 Flex System.
15. Indicar el uso de placa de 96 pozos.
16. Seleccionar ensayo de "Genotyping".
17. Seleccionar el uso de sondas "TaqMan Reagents".
18. Seleccionar en propiedades "estándar".
19. En la pestaña "Asigne" la ubicación de las muestras, los NTC y los controles, de acuerdo con el orden en que se colocaron en la placa.
20. En la ventana "run method" especificar el número de ciclos en 50 (**Figura C1**).
21. Esperar la amplificación.
22. Observar y analizar los resultados (**Figura C2**).

Tabla C1. Protocolo de preparación del master mix.

Reactivo	Master mix (μL)	Volumen por pozo (μL)
Master Mix Genotyping (2X)	494	4.94
Sonda rs56371916 (80X)	6	0.06
Muestra (5ng/μL)		5
Volumen total	500	10

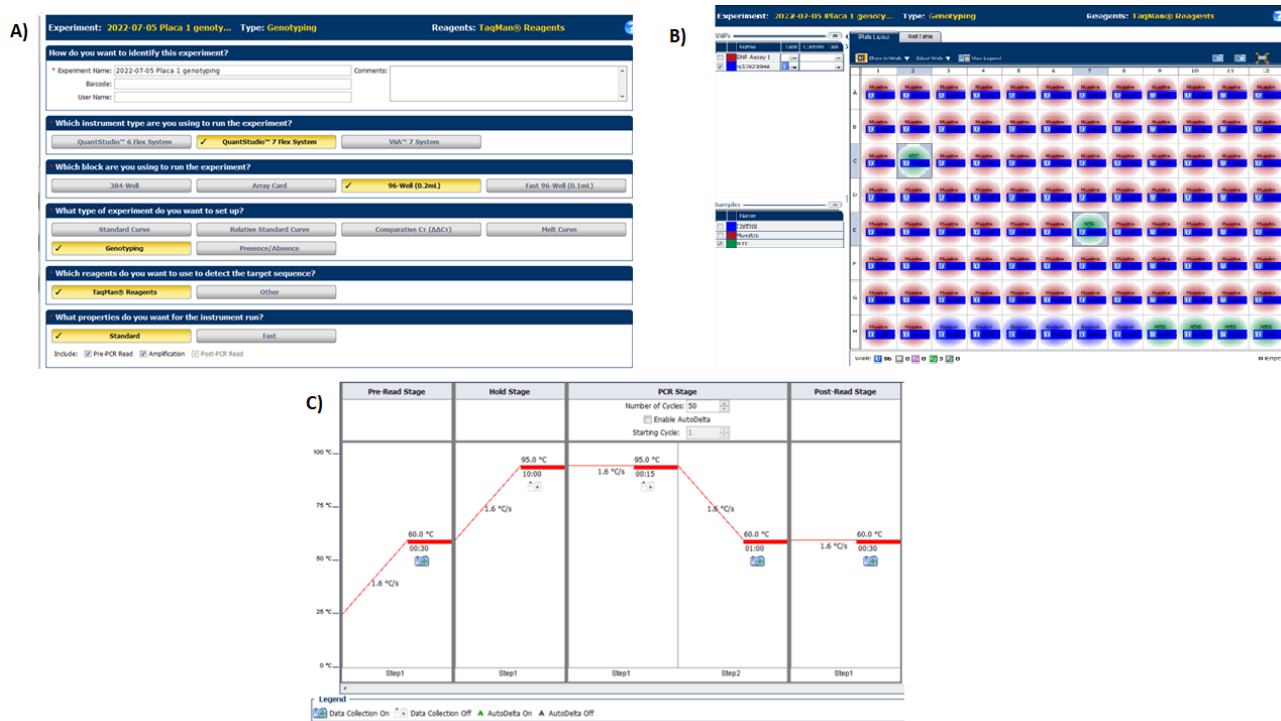


Figura C1: Software SDS para discriminación alélica.

A) Pestaña “Experiment Properties”. **B)** Pestaña de “Assignment”, donde se especifica la ubicación de las muestras (rojo) , los controles (azul) y los NTC (verde). **C)** Protocolo de la PCRq en la pestaña “Run Method” del software SDS.

Allelic Discrimination Plot

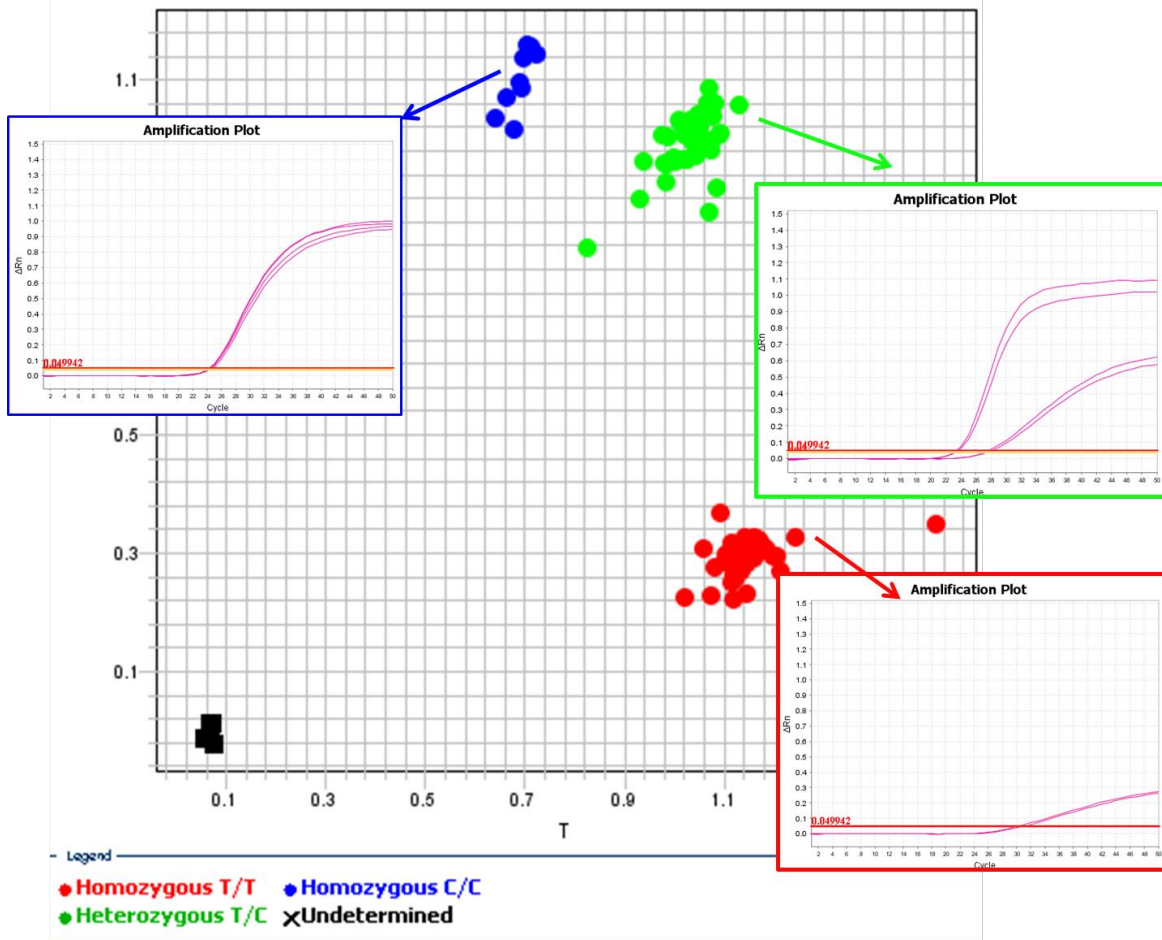


Figura C2: Plot de discriminación alélica, se señalan los plots de amplificación para cada alelo.