



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

**POLIMORFISMO FXIII VAL34LEU EN DONANTES DE SANGRE  
DEL HOSPITAL DR. LUIS RAZETTI, DE LA CIUDAD DE  
TUCUPITA, ESTADO DELTA AMACURO  
(Modalidad: Investigación)**

DARCYS CAROLINA MARQUETT GÓMEZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2010

**POLIMORFISMO FXIII VAL34LEU EN DONANTES DE SANGRE  
DEL HOSPITAL DR. LUIS RAZETTI, DE LA CIUDAD DE  
TUCUPITA, ESTADO DELTA AMACURO**

APROBADO POR:

---

Prof. Merlyn Vívenes  
Asesora

---

Prof. Miguel Campos  
Jurado

---

Prof. Raquel Salazar  
Jurado

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA .....	i
AGRADECIMIENTO .....	ii
LISTA DE TABLAS .....	iv
LISTA DE FIGURAS .....	v
RESUMEN .....	vi
INTRODUCCIÓN .....	1
METODOLOGÍA .....	8
Población estudiada.....	8
Criterios de selección .....	8
Normas de ética para la investigación en grupos humanos.....	8
Toma de muestra .....	9
Extracción del ADN .....	9
Amplificación del ADN.....	10
Digestión con enzima de restricción.....	12
Análisis estadístico.....	12
RESULTADOS.....	14
DISCUSIÓN .....	18
CONCLUSIONES .....	32
RECOMENDACIONES .....	33
BIBLIOGRAFÍA .....	34
ANEXOS .....	53
Hoja de Metadatos .....	69

## **DEDICATORIA**

En especial a mi madre Francis Gómez, quien me dio su apoyo incondicional para el logro de esta meta tan anhelada y cuyas palabras de motivación me impulsaron a seguir en los momentos más difíciles.

A mis hermanos Daniel, Dariela y Alejandro y a mis abuelos Cristina y Jesús, quienes junto con otros familiares me alentaron en el transcurso de mi carrera y fueron solidarios en muchas ocasiones.

## **AGRADECIMIENTO**

A

Dios todo poderoso por darme tantas bendiciones entre ellas la oportunidad de estudiar y alcanzar esta meta.

La Universidad de Oriente por ofrecerme la oportunidad de estudiar y formarme como profesional en esta institución y por la ayuda económica otorgada por el Vicerrectorado Administrativo.

A mis profesores por brindarme apoyo y enseñanzas a lo largo de mi carrera, especialmente, a la profesora Merlyn Vívenes por su asesoría, dedicación y ayuda que hicieron posible el logro de este trabajo de investigación.

El Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), por permitirme hacer uso de sus instalaciones y equipos para el procesamiento de las muestras.

Todo el personal del Laboratorio de Genética Humana del (IVIC), en especial a la Dra. Dinorah Castro de Guerra, por haber participado como directora de este trabajo de investigación. De igual manera agradezco a los doctores Álvaro Rodríguez e Irene Paradisi, a las licenciadas Mary Helen, Neida, Vicky, Maytte y Mireya, quienes aportaron su valiosa ayuda en mi entrenamiento y orientación para el uso de equipos y técnicas asociadas.

Todo el personal del Banco de Sangre del hospital Dr. Luis Razetti en la ciudad de Tucupita, por su ayuda y colaboración en la recolección de muestras destinadas a esta investigación, especialmente a la licenciada Olga Amaya.

Los donantes del Banco de Sangre del hospital Dr. Luis Razetti en la ciudad de Tucupita, quienes dieron su consentimiento para la obtención y análisis de las muestras de sangre.

La Sra. Juliandys Rodríguez y a su esposo Rowal Caraballo, por ofrecerme su grata hospitalidad en la ciudad de Tucupita, así como a la Sra. Alba Marina Rosales y a su esposo Antonio Mora, por recibirme amablemente en su hogar en la ciudad de Caracas.

Mi madre por su apoyo incondicional y motivación en tantos momentos de mi vida.

Mis familiares y amigos por alentarme al logro de esta meta.

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación según el sexo, de individuos aparentemente sanos pertenecientes al estado Delta Amacuro. ....	14
Tabla 2. Frecuencias alélicas del polimorfismo Val34Leu del factor XIII de la coagulación sanguínea, en individuos aparentemente sanos pertenecientes al estado Delta Amacuro.....	15
Tabla 3. Frecuencias genotípicas del polimorfismo Val34Leu del factor XIII en individuos aparentemente sanos pertenecientes al estado Delta Amacuro que formaron parte de la investigación. ....	15
Tabla 4. Factores de riesgo cardiovascular en individuos aparentemente sanos pertenecientes al estado Delta Amacuro que formaron parte de la investigación. ....	16

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gel de poliacrilamida al 10% en donde se observan las bandas que describen al polimorfismo Val34Leu del FXIII de la coagulación sanguínea. ... 17



## RESUMEN

En algunos estudios se ha asociado el polimorfismo Val34Leu del Factor XIII como efecto protector contra patologías trombóticas, razón por la cual es importante conocer sus frecuencias en individuos aparentemente sanos pertenecientes al estado Delta Amacuro, en donde no existen reportes al respecto. El grupo estudiado estuvo conformado por 56 individuos donantes de sangre, aparentemente sanos, nacidos en el estado Delta Amacuro, descendientes de padres y abuelos autóctonos de esta entidad. Se extrajo el ADN de las muestras sanguíneas, empleando un método salino y se llevó a cabo el análisis por PCR-RFPL. Se estudió un total de 112 cromosomas y se obtuvieron las frecuencias alélicas por contaje directo. Se analizó el ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg, con las frecuencias genotípicas, elaborando una prueba de  $\chi^2$  con el programa MAXLIK. La frecuencia alélica obtenida para valina<sup>34</sup> fue de 82,00%, mientras que para leucina<sup>34</sup> fue de 18,00%. Las frecuencias genotípicas fueron Val/Val 69,64%; Val/Leu 25,00% y Leu/Leu 5,36%. La información recopilada en las encuestas, señalan que el 82,14% de los individuos nunca ha adquirido el hábito de fumar, mientras que en el 17,86% se encuentran los fumadores y exfumadores. El 78,52% reportaron ser consumidores de bebidas alcohólicas; un 48,21% (n=27) de forma esporádica y 30,36% (n=17) semanalmente. Más de la mitad de los individuos (51,79%) afirmaron practicar una actividad física con frecuencia, por lo que el sedentarismo no es predominante en esta población. Con respecto a los antecedentes familiares del riesgo de sufrir de enfermedades cardiovasculares, el 71,42% (n=40) reportaron la ausencia de estos, mientras que el resto 28,58% (n=16) declararon la presencia de alguna de estas patologías en su entorno familiar. Los resultados obtenidos en este estudio son un gran aporte al conocimiento de la estructura genética de esta población.

## INTRODUCCIÓN

El factor XIII (FXIII) es una transglutaminasa que desempeña un papel muy importante en la cascada de la coagulación y en la fibrinólisis. Se encuentra como zimógeno en el plasma y en la célula. En el plasma, circula como un heterotetrámero compuesto por dos subunidades A (FXIIIA) las cuales presentan actividad catalítica, y dos subunidades B (FXIIIB) que se encargan de transportar a las subunidades FXIIIA, mientras que la proteína que está en el interior de la célula presenta solamente dos subunidades A. El FXIII se activa por acción de la proteína trombina en presencia de calcio, produciéndose una escisión proteolítica de las cadenas A entre los aminoácidos arginina 37 y glicina 38, liberando el terminal amino de 37 residuos y transformándose en FXIII activo (FXIIIa) (Schwartz y cols., 1973; Mikkola y cols., 1994; McKenzie, 2000).

La trombina, también actúa sobre la proteína fibrinógeno o factor II y lo transforma en monómeros de fibrina, que se van adosando de manera laxa para formar un polímero. Posteriormente, el FXIIIa cataliza la formación de enlaces covalentes entre los residuos de glutamina y lisina de los monómeros adyacentes, para estabilizar la malla de fibrina; lo cual conlleva al incremento de la resistencia del coágulo a factores químicos, mecánicos y a la degradación por la plasmina (Gaffney y Whitaker, 1979; Francis y Marder, 1988; Dardik y cols., 2005; Greenberg y cols., 2006; Sans-Sabrafen y cols., 2006; Muszbek y cols., 2008).

El gen que codifica para los 731 aminoácidos de la subunidad A del FXIII se encuentra conformado por más de 160kb, contiene 15 exones y 14 intrones y está ubicado en el locus 6p24-25, mientras que el gen que codifica

para los 641 aminoácidos de la subunidad B está localizado en el locus 1q31-32.1, posee 28kb de ADN e incluye 12 exones y 11 intrones (Webb y cols., 1989; Ichinose y cols., 1990; Anwar y cols., 1995).

Se han realizado estudios en diversas poblaciones humanas para dilucidar las bases moleculares del FXIII de coagulación sanguínea y se ha llegado a la identificación de cinco variantes situadas en regiones codificantes del gen de FXIII. Una de estas es el polimorfismo Val34Leu, ubicado en el exón 2, caracterizado por involucrar un solo nucleótido (SNP, del inglés Single Nucleotide Polymorphism), que ocasiona el cambio de la base nitrogenada guanina por timina y por ende, la sustitución del aminoácido valina por leucina, en la posición 34. Este polimorfismo no altera la concentración plasmática del factor, sin embargo por estar ubicado a solo 3 aminoácidos del sitio de activación por la trombina influye sobre su actividad funcional (Kangsadalampai y Board, 1998; Anwar y cols., 1999; Cushman y cols., 2007; Salazar-Sánchez y cols., 2007; Ajjan y Ariëns, 2009).

Se ha descrito que la activación del FXIII por la trombina en presencia de leucina<sub>34</sub> (Leu<sub>34</sub>) es de dos a tres veces más rápida. No obstante, existen reportes de que esta acción puede ejercer, contradictoriamente, un efecto protector contra algunas patologías trombóticas. Sin embargo, en otros estudios no se ha observado tal influencia en los individuos que poseen al menos un alelo Leu<sub>34</sub> (Anwar y cols., 1999; Ariëns y cols., 2000; Balogh y cols., 2000; Bereczky y cols., 2007; Le Gal y cols., 2007; Vokó y cols., 2007; Rallidis y cols., 2008). Ariëns y cols. (2002) han señalado que en presencia de esta variante las fibras de la malla de fibrina son más delgadas, con poros más pequeños y características de permeabilidad alteradas, cuando se compara con la estructura de los coágulos de fibrina formados en presencia

de valina<sup>34</sup> (Val<sup>34</sup>).

Este efecto protector contra patologías trombóticas, como infarto al miocardio y tromboembolismo venoso, recientemente ha sido asociado con los altos niveles de fibrinógeno plasmático en individuos que poseen el alelo Leu<sup>34</sup> (Kobbervig y Williams, 2004; Boekholdt y cols., 2006; Bereczky y cols., 2008; De La Red y cols., 2009). Las discrepancias observadas en estudios anteriores con respecto al efecto protector que ejerce el alelo Leu<sup>34</sup> en diversas poblaciones, pudieran estar moduladas por las interacciones del mismo y la concentración de fibrinógeno. Sin embargo, estos hallazgos siguen siendo el tema de futuras investigaciones confirmatorias (Ajjan y Ariëns, 2009).

El análisis de la frecuencia y la diversidad interpoblacional del polimorfismo Val<sup>34</sup>Leu en individuos aparentemente sanos pertenecientes a diferentes áreas geográficas, revelan una variación significativa de la frecuencia de Leu<sup>34</sup> en diferentes grupos poblacionales, reportándose frecuencias mayores en amerindios (29,30%) y caucásicos (27,30%), seguido de africanos (16,80%) y muy poco en asiáticos (1,30%) (Attié-Castro y cols., 2000).

En Venezuela se han determinado las frecuencias del polimorfismo Val<sup>34</sup>Leu en individuos aparentemente sanos de poblaciones con elevada proporción de mestizaje, provenientes de diferentes regiones del país. En la región nororiental, los estados Anzoátegui, Monagas, Nueva Esparta y Sucre muestran frecuencias para Leu<sup>34</sup> entre 15,00 y 23,00%. En la centro occidental, los estados Falcón y Lara, han mostrado valores de 19,00 y 20,00%, respectivamente. En la región capital las frecuencias han sido más bajas (12,00%) en individuos de estratos socioeconómicos altos, a diferencia

de los individuos de estratos bajos (31,00%), quienes según reportes de Martínez (2003), presentan un componente africano y amerindio considerable (Vívenes y cols., 2005; Jiménez, 2007; Izaguirre y cols., 2008; Vívenes y cols., 2008a).

No obstante, no existen reportes sobre Val34Leu en poblaciones venezolanas semiaisladas de ascendencia europea, africana, ni amerindia, siendo esta última la menos estudiada. Esto debido, probablemente, a que las comunidades indígenas cuentan con un bajo índice de inmigración y características particulares que dificultan las investigaciones, principalmente de tipo genético. En este sentido, aunque en los estados Amazonas y Delta Amacuro existe una gran proporción de amerindios, la extensa vegetación selvática y configuración hidrográfica peculiares de ambas localidades dificultan el acceso a las zonas donde habitan estos grupos aborígenes. De ahí el gran interés científico en estudiar la composición genética en individuos de estas regiones (Proyecciones de población con base Censo 2001, estado Delta Amacuro; Vívenes, 2005; Vívenes y cols., 2005; Jiménez, 2007).

Particularmente, el estado Delta Amacuro posee características singulares que lo hacen un interesante objeto de estudio relacionado con variantes genéticas. Su población total estimada para el año 2008 fue de 156.233 habitantes, lo que representa el 0,56% de la población total, siendo el segundo estado con menor población del país. Existe una proyección para el año 2010 de 163.360 habitantes, la densidad poblacional es de 3,88 habitantes por Km<sup>2</sup>, lo que indica un espacio geográfico prácticamente despoblado. Los principales centros poblados son Tucupita, Sierra Imataca, Curiapo y Pedernales (Proyecciones de población con base Censo 2001, estado Delta Amacuro).

En estudios de distribución de frecuencias de Val34Leu y de genética poblacional en general, se considera importante conocer las características geográficas e históricas de las zonas que se analizan, lo que permite dar una mejor interpretación de los resultados obtenidos en este tipo de investigaciones.

En este sentido, la población prehispánica del estado Delta Amacuro la formaron diversos grupos indígenas, entre los que se mencionan los Aramayas, Arawakos, Caribes, Pariagotos, Panacayos, Tiuitiuas, Mariusas y Waraos. Estos habitaban la zona cuando llegaron los conquistadores y misioneros, no obstante, a excepción de los Waraos, actualmente han desaparecido (Madi, 1987; Escalante y Moraleda, 1992; Etnia Warao, 2006; Lavandero, 2008).

En el año 1593 fue fundada una ciudad llamada Segunda de Santo Tomás de Guayana, por los conquistadores españoles en el espacio geográfico que en la actualidad es el estado Delta Amacuro. Con el transcurrir de los años esta región siguió poblándose por una gran mayoría de margariteños y por españoles e inmigrantes de los estados Sucre y Monagas, quienes al llegarles la noticia sobre la extraordinaria fertilidad de las tierras deltanas, decidieron hospedarse definitivamente en esta región, viviendo de la agricultura. El comercio en el Delta se mantuvo en constante aumento hasta que la rentabilidad del tráfico justificó la fundación de un lugar permanente que hiciera el acopio de las mercancías y su preparación para el embarque hacia la isla de Margarita, y los estados Sucre o Monagas. Para el año 1848 fue fundado el poblado Cuarenta y Ocho que es antecesor de la actual Tucupita (Marín, 1981; Madi, 1987; Mata, 2002).

Además de las personas que desde diferentes regiones del país se desplazaron hacia el estado Delta Amacuro, también hubo grupos pequeños de extranjeros trinitarios que se dedicaron especialmente a la agricultura. Desde los años 50 comenzaron a residenciarse comerciantes libaneses, italianos, españoles, portugueses y de otras nacionalidades (Madi, 1987; Delta Amacuro, estado, 1997).

La producción de pozos petroleros que hubo en esta zona también contribuyó al crecimiento de la población, pero la firma operadora dejó de explotarlos alegando que tenían un alto contenido de azufre y la producción era baja en comparación con otros estados petroleros del país (Salazar-Quijada, 1991).

El cierre de caño Mánamo en 1966 hizo posible la construcción de la carretera que comunica a la ciudad de Tucupita con el resto del país, incrementando los movimientos migratorios del estado (Delta Amacuro, estado, 1997; Davies, 2001).

De acuerdo con lo expuesto, se estima que los orígenes de la población general actual del estado Delta Amacuro radican en numerosos grupos de familias margariteñas que se trasladaron a esta región conjuntamente con las de otras localidades del país y extranjeros. Se ha reportado que en este estado no hubo un gran mestizaje entre el Warao e inmigrantes de otras áreas, debido a que la mayoría llegaron a estas tierras con sus familias y los descendientes de éstas fueron constituyendo uniones matrimoniales o concubinarias entre ellos mismos. Por consiguiente, en la población general actual del estado Delta Amacuro, a diferencia de los grupos que habitan en los caños del río Orinoco, no predominan los rasgos faciales de los amerindios autóctonos (Marín, 1981).

Son escasas las investigaciones realizadas con respecto a genética poblacional en el estado Delta Amacuro, existen reportes con un enfoque antropológico y social, entre los que cabe destacar los estudios sobre mendicidad en Waraos (García, 2000). También se han realizado investigaciones de carácter médico-científico como por ejemplo los relacionados con la respuesta y resistencia inmunológica a infecciones de *Ascaris lumbricoides*, en niños de poblaciones rurales (Hagel y cols., 2008); niveles de glicemia y perfil lipídico en indígenas Warao asociado al consumo de la fruta del árbol de moriche (Case y cols., 2007), entre otros. De igual manera se han llevado a cabo investigaciones genéticas sobre variantes hemoglobínicas, parámetros hematológicos y el gen de la beta-globina en grupos amerindios del Delta del Orinoco (Arends y cols., 2008). Sin embargo, no existen reportes sobre el polimorfismo Val34Leu del Factor XIII de la coagulación en individuos aparentemente sanos de este estado.

En este estudio, se realizó el análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo Val34Leu del FXIII en individuos aparentemente sanos nacidos en el estado Delta Amacuro, con la finalidad de crear un registro cuantitativo, lo que podría ser de utilidad en investigaciones futuras sobre patologías, que probablemente estén asociadas con este polimorfismo, en la población de este estado.



## **METODOLOGÍA**

### **Población estudiada**

El estudio se realizó en 56 individuos aparentemente sanos, con edades comprendidas entre 18 y 64 años, que asistieron como donantes al servicio de banco de sangre del Hospital “Dr. Luís Razetti”, en la ciudad de Tucupita, estado Delta Amacuro (anexo 1). El muestreo se efectuó entre los meses de agosto 2008 y enero de 2009.

### **Criterios de selección**

Se incluyeron en este estudio aquellos individuos nacidos en el estado Delta Amacuro, no relacionados biológicamente, con padres y abuelos también autóctonos del estado. La selección se realizó mediante la aplicación de una entrevista o encuesta para conocer diversos datos personales y clínico- epidemiológicos (anexo 2).

### **Normas de ética para la investigación en grupos humanos**

Se aplicaron las medidas de bioética establecidas en la declaración de Helsinki para la investigación en grupos humanos (Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, 2004), la cual establece en el párrafo 22 que “...cada individuo potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento. La persona

debe ser informada del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido la información, el investigador debe obtener entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona...” (anexo 3).

### **Toma de muestra**

A cada donante se le extrajo 10 ml de sangre por punción venosa de la fosa antecubital, previa antisepsia de la zona. De la muestra obtenida, 5 ml se colocaron en un tubo Falcon estéril con dos gotas de EDTA tetrasódico al 15% como anticoagulante, para realizar hematología completa y extracción de ADN. El resto de la muestra fue utilizado para otros estudios relacionados. Las muestras de sangre con anticoagulante, fueron llevadas al Laboratorio de Genética Humana del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), para la extracción y análisis del ADN (Mckenzie, 2000; Sans-Sabrafen y cols., 2006).

### **Extracción del ADN**

El proceso de extracción del ADN se llevó a cabo siguiendo el método de Lahiri y Nurnberger (1991), modificado en el Laboratorio de Genética Humana del IVIC. Para ello se tomaron 5 ml de muestra, se les añadió 5 ml de reactivo TKM1 (Tris/HCl, 10 mmol.l<sup>-1</sup>, pH 7,6; KCl, 10 mmol.l<sup>-1</sup>; MgCl<sub>2</sub>, 10 mmol.l<sup>-1</sup>; EDTA, 2 mmol.l<sup>-1</sup>) y luego 150 µl de de Nonidet P-40. Se agitó fuertemente utilizando un vortex, con la finalidad de romper los glóbulos rojos; posteriormente se centrifugó a 800 g por 15 minutos y se descartó el sobrenadante.

Se añadió 5 ml de TKM1 al precipitado, se agitó con un vortex y se centrifugó bajo las mismas condiciones anteriores. Este proceso se repitió 2 veces. Una vez lavado el precipitado, se le agregó 800  $\mu\text{l}$  de reactivo de TKM2 (Tris/HCl, 10  $\text{mmol.l}^{-1}$ , pH 7,6; KCl, 10  $\text{mmol.l}^{-1}$ ;  $\text{MgCl}_2$ , 10  $\text{mmol.l}^{-1}$ ; EDTA, 2  $\text{mmol.l}^{-1}$ ; NaOH, 0,4  $\text{mol.l}^{-1}$ ), se agitó en el vortex, se transfirió toda esta mezcla a un vial Eppendorf de 1,5 ml que contenía 55  $\mu\text{l}$  de sodio dodecil sulfato (SDS) al 10% y se agitó muy suave. Luego se incubó a 65°C por 10 minutos en baño de María y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Se agregó 300  $\mu\text{l}$  de NaCl 3,5  $\text{mol.l}^{-1}$ , con la finalidad de precipitar las proteínas, y se agitó muy suavemente. Posteriormente, se centrifugó a 7 000 g por 5 minutos, se trasladó el sobrenadante a un vial Eppendorf de 1,5 ml que contenía 1 ml de etanol 70% frío y se mezcló suavemente por inversión hasta que se observó la malla de ADN.

Se centrifugó la muestra a 7 000 g por 5 minutos y se descartó el etanol; posteriormente, se invirtió el vial con la muestra sobre un papel secante, con la finalidad de escurrir muy bien el alcohol, se dejó secar con ayuda de la estufa por 10 minutos, luego se le añadió 300  $\mu\text{l}$  de amortiguador (Tris/HCl, 10  $\text{mmol.l}^{-1}$  con EDTA, 1  $\text{mmol.l}^{-1}$ , pH 8), se agitó un poco dándole golpecitos suaves con los dedos en la parte inferior del vial para esparcir la malla adherida al fondo. Por último, se colocó en baño de María a 65°C por 10 minutos con el propósito de disolver el ADN.

### **Amplificación del ADN**

Se llevó a cabo, empleando la técnica de reacción en cadena de la

polimerasa (PCR, del inglés Polymerase Chain Reaction), utilizando el método descrito por Saiki y cols. (1988) y Franco y cols. (2000), adaptado a un volumen de mezcla total de 15  $\mu$ l.

La mezcla de la amplificación se preparó de la siguiente manera:

Mezcla de trabajo.....	4,20 $\mu$ l
Oligómero 1 (1 mmol.l <sup>-1</sup> ).....	1,50 $\mu$ l
Oligómero 2 (1 mmol.l <sup>-1</sup> ).....	1,50 $\mu$ l
Agua bidestilada estéril.....	4,80 $\mu$ l
Taq ADN polimerasa (5 U/ $\mu$ l) diluida 1/10.....	1,00 $\mu$ l
ADN (100-300 $\mu$ g/ $\mu$ l).....	2,00 $\mu$ l

El equipo empleado para la técnica de PCR fue un termociclador marca MJ Research; modelo PTC-100, el cual llevó a cabo la amplificación sometiendo las muestras a variaciones de temperaturas en diferentes fases:

- Iniciación a 94°C por 5 minutos.
- Desnaturalización a 94°C por 5 minutos.
- Hibridación a 57°C por 1 minuto.
- Elongación 74°C por 5 minutos.

Posteriormente se repitieron las fases de la 2 a la 4 por 35 ciclos y finalizó con una fase de enfriamiento a 23°C por 5 minutos (Henry y cols., 1999; De La Red y cols., 2009).

Se realizó una electroforesis en gel de poliacrilamida al 8%, utilizando una cámara de electroforesis Sigma Chemical C.O; modelo 235, 280-2, con

un amortiguador Tris-EDTA a pH 8,3. Se efectuó una precorrida inicial de 10 minutos aproximadamente, luego se agregaron las muestras en los pozos del gel y se efectuó la corrida electroforética a un voltaje de 200 V y 25 mA por 2 horas, con el propósito de observar si hubo amplificación de las muestras. Una vez culminada la corrida, se colocó el gel en una solución fijadora conformada por etanol al 10% y ácido acético al 0,5%, luego se procedió a colorear el gel con una solución de nitrato de plata al 0,3% y a revelar las bandas de ADN con hidróxido de sodio 1,5% y formaldehído 0,4% (Jung y cols., 1998).

### **Digestión con enzima de restricción**

Las muestras amplificadas fueron sometidas a digestión enzimática, empleando la enzima MseI que reconoce la secuencia de nucleótidos 5'-T↓TAA-3' (3'-AAT↓T-5') y corta el ADN amplificado en ese punto concreto cuando está presente el alelo Leu34 (Franco y cols., 2000). Con la finalidad de observar el resultado obtenido en la digestión de cada muestra, se les realizó nuevamente una corrida electroforética en un gel de poliacrilamida al 10%, empleando el mismo protocolo que se utilizó para observar el resultado de la amplificación.

### **Análisis estadístico**

Una vez obtenidos los resultados de la digestión enzimática, se procedió a estimar por conteo directo las frecuencias del sistema Val34Leu; tanto las alélicas, como las genotípicas y a partir de estas últimas, se determinó si se cumplió el equilibrio de Hardy-Weinberg, elaborando una prueba de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ) con el programa MAXLIK del inglés Maximum

Likelihood (Máxima Verosimilitud) (Reed y Schull, 1968).

## RESULTADOS

La tabla 1 muestra la clasificación de acuerdo al sexo de los individuos estudiados. De un total de 56 individuos el 67,86% (n=38) eran de sexo masculino y el 32,14% (n=18) femenino, con un rango de edad de 18 a 64 años (promedio de  $31,80 \pm 8,41$  años).

Tabla 1. Clasificación según el sexo, de individuos aparentemente sanos pertenecientes al estado Delta Amacuro.

Sexo	n	Porcentaje (%)
Masculino	38	67,86
Femenino	18	32,14
Total	56	100,00

En la tabla 2 se reportan las frecuencias alélicas del polimorfismo Val34Leu del FXIII, observadas en el grupo de individuos estudiados, mostrándose una proporción de 82,00% para el alelo Val34 y el 18,00% para el alelo Leu34. Estas frecuencias alélicas son similares a las encontradas en individuos aparentemente sanos pertenecientes a los estados Sucre y Nueva Esparta en donde las frecuencias de Leu34 fueron de 18,00% y 17,00% respectivamente (Vívenes, 2005; Vívenes y cols., 2005; Vívenes y cols., 2008b).

Tabla 2. Frecuencias alélicas del polimorfismo Val34Leu del factor XIII de la coagulación sanguínea, en individuos aparentemente sanos pertenecientes al estado Delta Amacuro.

Alelos	n	Frecuencia (%)
Val	92	82,00
Leu	20	18,00
Total	112	100,00

La tabla 3 muestra las frecuencias genotípicas del polimorfismo Val34Leu del FXIII de la coagulación sanguínea, observadas en los individuos estudiados, se muestran frecuencias mayores para el genotipo homocigoto Val/Val (69,64%), seguido del heterocigoto Val/Leu (25,00%) y en menor proporción del homocigoto Leu/Leu (5,36%).

Tabla 3. Frecuencias genotípicas del polimorfismo Val34Leu del factor XIII en individuos aparentemente sanos pertenecientes al estado Delta Amacuro que formaron parte de la investigación.

Genotipos	n	Frecuencia (%)
Val/Val	39	69,64
Val/Leu	14	25,00
Leu/Leu	3	5,36
Total	56	100,00

La tabla 4 muestra los resultados obtenidos de las encuestas realizadas a los individuos estudiados, con respecto a algunos factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares. En la base de datos reportados por los encuestados se observa que un gran porcentaje de estos (82,14%), nunca ha adquirido el hábito de fumar. El 78,52% reportó ser consumidores de



bebidas alcohólicas; un 48,21% (n=27) de forma esporádica y 30,36% (n=17) semanalmente. Más de la mitad de los individuos (51,79%) afirmaron practicar una actividad física con frecuencia, por lo que el sedentarismo no es predominante en esta población. Con respecto a los antecedentes familiares del riesgo de sufrir de enfermedades cardiovasculares, el 71,42% (n=40) reportó la ausencia de estos, mientras que el resto 28,58% (n=16) declararon la presencia de alguna de estas patologías en su entorno familiar.

Tabla 4. Factores de riesgo cardiovascular en individuos aparentemente sanos pertenecientes al estado Delta Amacuro que formaron parte de la investigación.

	n	%
<b>HÁBITO DE FUMAR</b>		
Ex fumador	3	5,36
Fumador	7	12,50
Nunca ha fumado	46	82,14
Total	56	100,00
<b>CONSUMO DE BEBIDAS ALCOHOLICAS</b>		
Nunca	12	21,43
Esporádico	27	48,21
Semanal	17	30,36
Todos los días	0	0,00
Total	56	100,00
<b>SEDENTARISMO</b>		
Sí	27	48,21
No	29	51,79
Total	56	100,00
<b>ANTECEDENTES FAMILIARES</b>		
Ausencia	40	71,42
ECl-Diabetes	1	1,79
Diabetes	1	1,79
Hcol	3	5,35
Taquicardia	1	1,79
HTA	4	7,14
HTA-Diabetes	1	1,79
HTA-ECl	1	1,79
ECl	1	1,79
HTA-Hcol	2	3,56
Hcol-Htg	1	1,79
Total	56	100,00

Hcol: hipercolesterolemia. Htg: hipertrigliceridemia. ECl: enfermedad cardiovascular isquémica. HTA: hipertensión arterial.

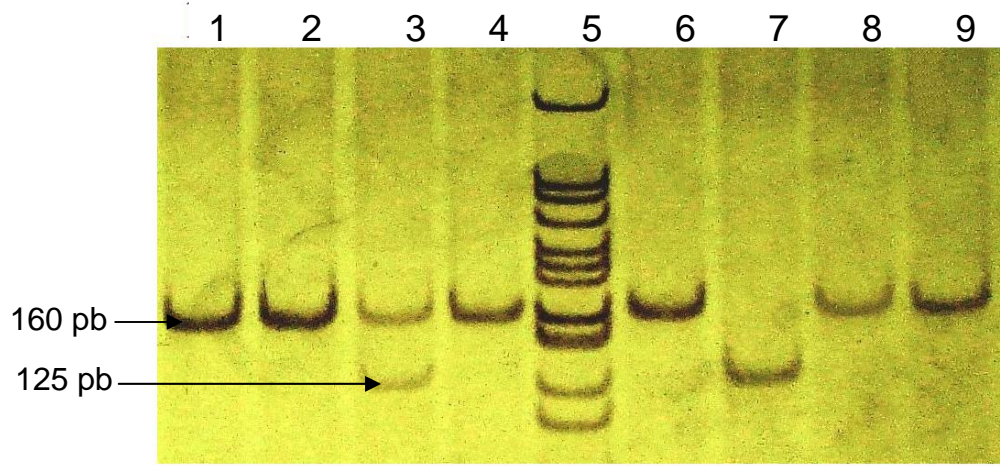


Figura 1. Gel de poliacrilamida al 10% en donde se observan las bandas que describen al polimorfismo Val34Leu del FXIII de la coagulación sanguínea. Pozo 1: muestra sin digerir; Pozos 2, 4, 6, 8 y 9: Val/Val; Pozo 3: Val/Leu; Pozo 7: Leu/Leu; Pozo 5: patrón (ADN del plásmido pBR 322 digerido con la enzima de restricción Msp).

## DISCUSIÓN

Este trabajo de investigación representa un gran aporte al conocimiento de la estructura genética del estado Delta Amacuro en donde existen muy pocos reportes al respecto, debido a la extensa vegetación selvática y configuración hidrográfica de esta zona. Además, permitirá en estudios posteriores, analizar la asociación de este polimorfismo con patologías de tipo trombóticas, en esta región.

La determinación del polimorfismo Val34Leu del Factor XIII de la coagulación sanguínea se efectuó en 56 individuos aparentemente sanos, no emparentados, con padres y abuelos nacidos en el estado Delta Amacuro. El grupo estuvo conformado en mayor proporción por personas de sexo masculino (67,86%) que femenino (32,14%) (tabla 1); debido a que la mayoría de las mujeres atendidas en este centro de salud, no presentaban valores de hemoglobina apropiados para ser aceptadas como donantes de sangre (McKenzie, 2000; Balcells, 2006).

El polimorfismo Val34Leu es una variante autosómica, es decir no se encuentra ligada al sexo, razón por la que la desigualdad en la proporción de género, no debería afectar las frecuencias del mismo (Anwar y cols., 1995). Estudios recientes realizados por Mannila y cols., 2007 reportan que no existen diferencias significativas en las frecuencias de Leu34 entre hombres (25,41%) y mujeres (26,14%) de Suecia, a pesar de la desproporción en el número de individuos estudiados por sexo (1019 y 484, respectivamente).

De los 112 cromosomas analizados en el presente estudio, 82,00% eran Val34 y 18,00% Leu34 (tabla 2). Se han realizado análisis de la

frecuencia y de la diversidad interpoblacional del polimorfismo Val34Leu en individuos pertenecientes a diferentes áreas geográficas. Entre estos estudios destaca el de Attié-Castro y cols. (2000), cuya muestra estuvo constituida por 450 individuos adultos no relacionados biológicamente y aparentemente sanos, quienes reportaron una variación significativa con un predominio del alelo Val34 y variaciones importantes en la frecuencia de Leu34, según los diferentes grupos poblacionales: amerindios (29,30%), caucásicos (27,30%), africanos (16,80%) y asiáticos (1,30%).

La alta frecuencia de este alelo en grupos poblacionales amerindios es significativa, a diferencia de los valores asiáticos extremadamente bajos. Es probable que en otras poblaciones asiáticas aún no estudiadas las frecuencias de Leu34 sean mayores, particularmente pudiera tomarse en cuenta los pobladores de Siberia, motivado a las investigaciones llevadas a cabo por Wang y cols. (2007) donde proponen que los ancestros del grupo poblacional amerindio provienen de esta región de Asia del Norte. Según los reportes, los siberianos cruzaron el estrecho de Behring y llegaron al continente americano hace unos 11.000 años. Además, la alta frecuencia del alelo Leu34 en amerindios pudiera ser producto de fenómenos de deriva genética, por acontecimientos de efecto fundador o de cuello de botella (Cavalli-Sforza y cols., 1994; Salzano y Bortolini, 2002).

La frecuencia de Leu34 obtenida en este estudio (18,00%) es comparable con la reportada en otros países europeos. Se aproxima a las frecuencias de España mediterránea (19,00%-20,40%), a excepción de la provincia de Barcelona (16,00%). De igual manera se encuentran semejanzas con las de Turquía (19,10 a 19,23%), Italia-Milán (19,62%) y Reino Unido-Leeds (17,70%), sin embargo, se halla más distantes de las encontradas en Italia-Ferrara (21,03 a 24,87%), Portugal (24,00%), Francia

(26,00 a 28,80%), Hungría-Debrecen (25,90%), Polonia-Cracovia (21,62%), Grecia-Atenas y Pireo (26,40%), Suecia-Estocolmo (25,65 a 25,80%), Países Bajos-Leiden (24,00%), Reino Unido-Norfolk (26,10%), Austria-(Graz 30,50% y Viena 28,32%), Finlandia (22,50%) y Rusia (24,00 a 27,10%). La frecuencia de Leu34 en el Delta Amacuro resultó ser superior a la de Alemania (11,00%) e inferior a la de individuos caucásicos de la ciudad de Camberra, Australia (27,00%) (anexo 4).

En otros continentes existen pocos reportes al respecto, tal es el caso Africa, donde Attié-Castro y cols., (2000), han encontrado variaciones en Camerún (11,80%), Angola (18,80%) y Zaire (24,30%). Los países asiáticos estudiados hasta el momento han reportado las frecuencias de Leu34 más bajas con respecto al resto de los diferentes grupos humanos, encontrándose en Japón una proporción entre 1,10 y 1,30%, mientras que en Corea este alelo está ausente. Sin embargo, en otros estudios realizados en individuos del sur de Asia se obtuvieron valores de 13,50% y en Indoasiáticos se halló una frecuencia de 16,40% (Kangsadalampai y Board, 1998; Attié-Castro y cols., 2000; Ki-Hyun y cols., 2002; Kain y cols., 2005; Marín y cols., 2005).

La mayoría de las determinaciones del polimorfismo Val34Leu se han realizado en el continente europeo y se puede notar que existen grandes diferencias entre países e incluso dentro de un mismo país; tal es el caso de Finlandia en donde se reportan frecuencias de 13,00% en Kainuu, 21,00% en Laponia, y 28,00% en Helsinki y en Westem. De igual manera en Italia existen diferencias en Ferrara (21,03 a 24,87%) y Milán (19,62%), mientras que en España mediterránea se han encontrado frecuencias que van desde 16,00% en la provincia de Barcelona hasta 19,00 a 20,40%, en general (anexo 4). Estas diversidades en las frecuencias permiten asumir

que el alelo Leu34 no tiene un patrón geográfico particular, sin embargo, es importante tomar en consideración las variaciones en las diferentes zonas de un mismo continente y aun dentro de un mismo país.

Estos aspectos son determinantes en el continente americano debido a que estas poblaciones han estado sometidas a un intenso proceso de mestizaje desde la época de la colonia y se deben tomar medidas estrictas con respecto al criterio de selección, con la finalidad de conservar la homogeneidad genética de la muestra que se desea estudiar, para evitar el proceso de estratificación de las mismas (Thomas y Witte, 2002).

La determinación del polimorfismo Val34Leu en el continente americano, se ha realizado, hasta el momento, en Canadá, Costa Rica, Estados Unidos (EE.UU), Brasil y Venezuela. Las frecuencias de Leu34 en Canadá han sido evaluadas en Newfoundland (27,10%) y Manitoba (25,30%). En EE.UU, en afroamericanos (19,50%), en individuos caucásicos del estado de Texas (22,40%) y en Washington (25,80% en caucásicos y 25,30% en la población general). En Centroamérica solo existen reportes en San José de Costa Rica (30,50%) y en Suramérica en afrobrasileños (14,00%), individuos de ascendencia caucásica (30,60%) y de otros grupo provenientes de São Paulo (25,50 y 28,30%) (Franco y cols., 1999; Attié-Castro y cols., 2000; Franco y cols., 2000; Aleksic y cols., 2002; Reiner y cols., 2002; Butt y cols., 2003; Bernstein y cols., 2007; Cushman y cols., 2007; Salazar-Sánchez y cols., 2007; Vivenes y cols., 2008b) (anexo 4).

Al asociar la frecuencia de Leu34 (18,00%) obtenida en esta investigación, con las de los países americanos se encuentran semejanzas únicamente con los afroamericanos del estado de Texas, sin embargo, difiere bastante del resultado obtenido en Costa Rica a pesar de ser un país

hispanoamericano con gran proporción de población mestiza.

Rodríguez-Larralde y cols., 2001, mencionan el intenso proceso de mestizaje ocurrido en Venezuela que parece haber implicado la sustitución parcial del cúmulo genético aborígen por el español, a diferencia de otros países como México, los de Centro América y los andinos, donde éste se conservó en mayor proporción. De igual manera el poblamiento del territorio venezolano con inmigrantes procedentes de España, es un proceso que se reactivó a mediados del siglo pasado.

En Venezuela se han determinado las frecuencias del polimorfismo Val34Leu en individuos aparentemente sanos de diferentes regiones del país. En los estados de la región oriental se han reportado frecuencias para el alelo Leu34 de 15,00% en Anzoátegui, 17,00% en Nueva Esparta, 18,00% en Sucre y 23,00% en Monagas. La frecuencia en el estado Anzoátegui está entre una de las más baja reportada hasta ahora en el país, mientras que la frecuencia más alta encontrada en la región oriental ha sido la de Monagas. Los valores de Leu34 de los estados Nueva Esparta y Sucre son semejantes a los encontrados en el presente estudio e inferiores a lo que se ha reportado en individuos americanos mezclados de EE.UU, Canadá, Brasil y Costa Rica (anexo 4) (Vívenes, 2005; Vívenes y cols., 2005; Jiménez, 2007; Vívenes y cols., 2008b).

Hacia la región centro occidental, en los estados Falcón y Lara se reportaron frecuencias para Leu34 de 18,70% y 20,20% respectivamente, resaltando las poblaciones de Churuguara (Falcón) y Barquisimeto (Lara) donde se observaron frecuencias mayores al 20,00% (Izaguirre y cols., 2008). En la región capital se han reportado valores muy bajos (12,00%) en individuos de estratos socioeconómicos altos, a diferencia de los individuos

de estratos bajos (31,00%), quienes presentan un componente africano y amerindio considerable (Vívenes y cols., 2008a).

De acuerdo a los estudios de Rodríguez-Larralde y cols., (2000, 2001), basados en el análisis de los apellidos en Venezuela, se ha revelado la existencia de diferencias regionales en cuanto a su distribución, que podrían estar asociadas a diversidades genéticas, por contribución diferencial de distintos grupos humanos a la composición de nuestra población. Junto con este estudio se aportaron frecuencias alélicas del grupo sanguíneo ABO y la presencia o ausencia del factor Rh; estos datos fueron obtenidos de individuos de diferentes estados del país. A partir de ello se definieron diferentes regiones geográficas en Venezuela: 1) la región central (RC), que comprende los estados Aragua, Carabobo, Guárico, Miranda y el Distrito Federal; 2) la región centro-occidental (RCO), con los estados Lara, Portuguesa y Yaracuy; 3) la región nor-oriental (RNO) con los estados Zulia y Falcón; 4) la región oriental (RO), incluyendo a Anzoátegui, Bolívar, Monagas, Sucre y Nueva Esparta; 5) y la región Los Andes (RLA), con los estados Táchira, Mérida, Trujillo y Barinas (anexo 5). En base a los resultados señalaron que los venezolanos son el producto de una población amerindia original la cual ha recibido genes europeos (en su mayoría de españoles) y africanos, debido al proceso de mestizaje ocurrido en la época de la colonia. Se observa que en la población venezolana el aporte genético predominante es el de origen español en un 58,80%, seguido del amerindio (28,50%) y por último del africano (12,60%). El componente genético de estos tres grupos poblacionales se distribuyó en distintas proporciones, en respectivas áreas geográficas del país.

Vívenes y cols., (2008b), mediante la determinación de las frecuencias alélicas de los grupos sanguíneos ABO y Rh, en los estados Monagas,



Nueva Esparta y Sucre, mostraron, características propias de componentes genéticos europeos, africanos y amerindios. Las proporciones reportadas de estos grupos fueron 80,00%; 15,00% y 5,00% en Nueva Esparta y 85,00%; 9,00% y 6,00% en Sucre respectivamente. No obstante, en el estado Monagas se encontró el componente africano (39,00%), en mayor proporción, seguido y casi semejante del europeo (38,00%) y por último del amerindio (23,00%) (anexo 6). El aporte africano expresa sus máximos valores en zonas donde se ubicaban las plantaciones agrícolas que se nutrían de mano de obra esclava africana. Monagas, era un estado con un sector agrícola muy desarrollado en Venezuela antes del descubrimiento y la explotación del petróleo. Estos reportes determinan la heterogeneidad genética que se puede encontrar dentro de una misma región y resulta interesante continuar estudiando polimorfismos genéticos, principalmente aquellos que son altamente informativos (Rodríguez-Larralde y cols., 2001; Monagas, 2003).

De acuerdo a los datos históricos del estado Delta Amacuro a comienzos del siglo XIX, inmigraron a estas tierras personas de los estados Nueva Esparta, Sucre, y Monagas, quienes tuvieron un gran asentamiento en el espacio geográfico que actualmente es la ciudad de Tucupita. Debido a que la mayoría de los inmigrantes llevaron a sus familias, no se llevó a cabo un proceso de mestizaje en grandes proporciones con aborígenes de la zona (Marín, 1981; Madi, 1987; Mata, 2002).

Las frecuencias alélicas obtenidas permiten deducir que a pesar del estricto criterio de selección aplicado, la mayoría de estos individuos pudieran ser descendientes de inmigrantes provenientes de Nueva Esparta y Sucre, las frecuencias de Leu34 en estos estados (17,00% y 18,00% respectivamente), son similares a las encontradas en este estudio, sin

embargo la frecuencia de Leu34 reportada en el estado Monagas fue de 23,00% y tomando en cuenta que este estado posee un límite fronterizo bastante amplio con Delta Amacuro, se estima que los inmigrantes monaguenses eran hacendados de estrato socioeconómico alto y con un importante componente español. De igual manera los Waraos se refugiaban en la selva huyendo de los amerindios Caribes y de los conquistadores españoles, teniendo poco contacto con estos últimos (Madi, 1987). De acuerdo a las frecuencias alélicas de Leu34 en grupos amerindios estudiados hasta ahora, la más cercana a la que se obtuvo, es similar a la encontrada en los Kayapó (19,20%) de Brasil. Por el contrario, las frecuencias alélicas de Leu34 fueron de 45,20% en indígenas Yanomamis que en su mayoría habitan al sur de Venezuela (Lizot, 1988; Attié-Castro y cols., 2000).

Las frecuencias genotípicas encontradas en los individuos estudiados fueron 69,64% (n=39) para Val/Val; 25,00% (n=14) para Val/Leu y 5,36% (n=3) para Leu/Leu (tabla 3), a partir de estos resultados se evaluó si se cumplió la ley Hardy-Weinberg (H-W), determinándose que la población investigada se encuentra en equilibrio ( $0,1 < p < 0,5$ ). Este teorema considera los siguientes supuestos: el tamaño de la población debe ser infinitamente grande, la segregación de los genes acontecen de acuerdo a las leyes de Mendel, los apareamientos suceden al azar, no debe ocurrir el aporte de alelos nuevos por parte de las mutaciones, ni existir intercambio de genes con individuos de otras poblaciones, además todos los individuos deben tener en promedio igual número de descendientes; si la población está en equilibrio, este teorema establece que, las frecuencias genotípicas vienen dadas por el desarrollo de  $(p + q)^2$ , con respecto a todo lo mencionado (Crow, 1999) (anexo 7).

De acuerdo al estudio realizado por Attié-Castro y cols. (2000) existe diversidad interpoblacional con respecto a las frecuencias genotípicas, reportándose en grupos poblacionales caucásicos 55,70% (n=54) para Val/Val; 34,00% (n=33) para Val/Leu y 10,30% (n=10) para Leu/Leu, en africanos 71,10% (n=106) para Val/Val; 24,20% (n=36) para Val/Leu y 4,70% (n=7) para Leu/Leu. En grupos poblacionales asiáticos 97,50% (n=39) para Val/Val; 2,50% (n=1) para Val/Leu y 0,00% (n=0) para Leu/Leu, mientras que en amerindios 48,80% (n=80) para Val/Val; 43,90% (n=72) para Val/Leu; 7,30% (n=12) para Leu/Leu. Las frecuencias genotípicas de Val/Leu y Leu/Leu en amerindios son bastante significativas con respecto a las de los asiáticos, en quienes no se reportaron individuos homocigotos Leu/Leu, sin embargo estos valores fueron obtenidos de individuos japoneses, por tal motivo existe la posibilidad de que en otras poblaciones asiáticas aún no estudiadas las frecuencias de los genotipos Val/Leu y Leu/Leu sean mayores.

Se han determinado frecuencias genotípicas del polimorfismo Val<sup>34</sup>Leu en diferentes regiones de Venezuela. De acuerdo a los estratos socioeconómicos se investigó este polimorfismo en la región capital reportándose frecuencias genotípicas de 41,00; 8,00 y 2,00% en el estrato socioeconómico alto y de 24,00; 19,00 y 5,00% en el estrato socioeconómico bajo para Val/Val, Val/Leu y Leu/Leu, respectivamente. En la región centro occidental las frecuencias genotípicas determinadas fueron 65,10% para Val/Val; 31,20% para Val/Leu y 3,70% para Leu/Leu. En estados de la región oriental: Monagas, Nueva Esparta y Sucre se obtuvieron en promedio frecuencias genotípicas de 66,13% para Val/Val; 30,11% para Val/Leu y 3,76% para Leu/Leu. El estado Anzoátegui reportó 72,31%; 26,15% y 1,54%, para Val/Val, Val/Leu y Leu/Leu respectivamente (Vívenes, 2005; Jiménez, 2007; Izaguirre y cols., 2008; Vívenes y cols., 2008a).

En algunos estudios se ha asociado el polimorfismo Val34Leu como efecto protector contra patologías trombóticas y cardiovasculares, tales como; infarto al miocardio, trombosis venosa profunda y hemorragia intracerebral (Weger y cols., 2001; Slowik y cols., 2005; Wells y cols., 2006; Salazar-Sánchez y cols., 2007; Shafey y cols., 2007; Rallidis y cols., 2008; Shemirani y cols., 2009). Sin embargo, en algunas investigaciones no se ha revelado efecto alguno en los individuos que poseen esta variante, lo que ha dado lugar a una controversia sobre el papel de este polimorfismo en la trombosis arterial y venosa (Ki-Hyun y cols., 2002; Akar y cols., 2007; Cushman y cols., 2007; Vokó y cols., 2007).

Gemmati y cols. (2004) determinaron que el polimorfismo Val34Leu puede desempeñar un papel crucial en los procesos fisiopatológicos que forman la úlcera venosa crónica en pierna, estando relacionado con la progresión y la extensión de esta, debido a los efectos directos que el polimorfismo tiene en la actividad molecular del FXIII. Sin embargo el polimorfismo Val34Leu fue asociado a un tiempo de recuperación rápido posterior a cirugías venosas superficiales, a pesar de su influencia en el establecimiento de la úlcera venosa crónica en pierna (Gemmati y cols., 2006). De acuerdo a Parmeggiani y cols. (2004) el alelo Leu34 es un factor de riesgo que predispone a hemorragia subconjuntival espontánea, tanto en individuos heterocigotos (Val/Leu) como homocigotos (Leu/Leu).

Se han llevado a cabo estudios de farmacogenética relacionados con este polimorfismo, entre estos se encuentra una investigación realizada por Marín y cols. (2005) quienes señalan que el alelo Leu34 del FXIII reduce la eficacia del tratamiento fibrinolítico y confiere un peor pronóstico en las primeras 24 horas, en pacientes con antecedentes de infarto al miocardio

agudo que asistieron a dos centros de salud europeos: uno ubicado en el Reino Unido y el otro en España. Por otro lado, Undas y cols. (2003) reportaron que la inhibición de la activación del FXIII por la aspirina es mayor en individuos portadores del alelo Leu34 y se benefician por usar bajas dosis para reducir el riesgo de infarto al miocardio, a diferencia de aquellos individuos homocigotos para Val34.

El incremento de la velocidad de activación del FXIII por trombina en individuos que poseen el alelo Leu34 ocasiona alteraciones en la estructura molecular de la malla de fibrina. Mediante el empleo de microscopía electrónica se han confirmado diferencias estructurales en los coágulos de fibrina (anexo 8). Las razones bioquímicas que ocasionan este efecto no se conocen con certeza, sin embargo varios estudios han sugerido que los posibles cambios conformacionales en la molécula de FXIII pudieran jugar un papel importante. (Ariëns y cols., 2000; Ariëns y cols., 2002; Le Gal y cols., 2007; Bereczky y cols., 2008).

Estudios realizados recientemente han descrito que los altos niveles de fibrinógeno plasmático en individuos que poseen el alelo Leu34, les provee un efecto protector contra patologías cardiovasculares tales como: trombosis venosas y coronarias e infarto al miocardio (Kobbervig y Williams, 2004; Boekholdt y cols., 2006; Bereczky y cols., 2007; De La Red y cols., 2009).

Vossen y Rosendaal (2005) determinaron que la variante Leu34 no confiere un efecto protector en individuos heterocigotos (Val/Leu) con niveles normales de fibrinógeno, tanto en hombres como en mujeres. No obstante, en portadores homocigotos de Leu34 con niveles normales de fibrinógeno encontraron un efecto protector, especialmente en hombres. De igual manera un efecto protector de Leu34 estuvo presente en individuos con altos niveles

de fibrinógeno, particularmente en hombres homocigotos y heterocigotos.

Ajjan y Ariëns (2009) señalan que las altas concentraciones de fibrinógeno plasmático en individuos portadores del alelo Leu34 dan lugar a la formación de coágulos más blandos, comparados con los que se forman en los individuos que poseen el alelo Val34. La interacción del fibrinógeno junto con el polimorfismo Val34Leu pudiera explicar las discrepancias observadas en estudios anteriores con respecto al efecto protector que ejerce el alelo Leu34 contra la trombosis. Sin embargo este hallazgo sigue siendo el tema de futuras investigaciones confirmatorias.

El concepto de factor de riesgo de la enfermedad coronaria se aplica a aquellos signos biológicos y hábitos adquiridos que se han encontrado con mayor frecuencia entre los enfermos de cardiopatía en relación con la población general. Los factores de riesgo permiten identificar dentro de una población al grupo con mayor riesgo de presentar la enfermedad en los próximos años (Manzur y Arrieta, 2005). Por medio de encuestas realizadas a los individuos estudiados, se determinaron algunos de los comportamientos y hábitos que predisponen a estas patologías, evaluándose el hábito de fumar, el consumo de bebidas alcohólicas, la práctica de alguna actividad física y antecedentes de enfermedades cardiovasculares (tabla 4).

De acuerdo a las respuestas emitidas, se observa que un gran porcentaje de estos (82,14%), nunca ha adquirido el hábito de fumar, mientras que en el 17,86% se encuentran los fumadores y exfumadores. El alto porcentaje de no fumadores dentro de este grupo, constituye una de las variables protectora que incidirá de forma positiva en el mantenimiento y prevención de enfermedades asociadas al corazón. Se ha calculado que la quinta parte de las muertes causadas por enfermedades cardiovasculares

son atribuibles al uso del tabaco (Folkins y Sime, 1981).

Con respecto al hábito alcohólico, el 78,52% reportaron ser consumidores de estas bebidas; un 48,21% (n=27) de forma esporádica y 30,36% (n=17) semanalmente. Múltiples investigaciones tendientes a esclarecer la relación entre la ingesta de bebidas alcohólicas y la reducción del riesgo de enfermedad cardiovascular han demostrado que algunos tipos de bebidas reducen el riesgo de enfermedad coronaria gracias a que ejercen un efecto en los diferentes tejidos, así mismo, se han observado cambios en las lipoproteínas plasmáticas, como aumento de HDL-colesterol y descenso del LDL-colesterol. Además de esto, se ha determinado, que otras bebidas pueden ejercer un efecto anti-trombogénico, relacionado a su alto contenido de antioxidantes, vasodilatadores y estimulantes del efecto antiagregante plaquetario, secundarios a la secreción del activador tisular del plasminógeno por las células endoteliales. Por otra parte, se ha observado un efecto inverso deletéreo cuando hay una ingesta excesiva y crónica de ciertas bebidas alcohólicas, ya que los lípidos se acumulan en los tejidos que las metabolizan, desencadenándose disfunciones en el metabolismo de carbohidratos y de las lipoproteínas, los cuales son el común denominador necesario para desarrollar la enfermedad cardiovascular (Bermúdez-Pirela y cols., 2003).

Más de la mitad de los individuos (51,79%) afirmaron practicar una actividad física con frecuencia, por lo que el sedentarismo no es predominante en esta población, lo cual constituye uno de los factores protectores más importantes para el mantenimiento de la salud en general. Con respecto a los antecedentes familiares del riesgo de sufrir de enfermedades cardiovasculares, el 71,42% (n=40) reportó la ausencia de estos, mientras que el resto 28,58% (n=16) declararon la presencia de

alguna de estas patologías en su entorno familiar., entre las más frecuentes mencionaron: hipertensión arterial (HTA), hipercolesterolemia (Hcol), Diabetes y enfermedad cardiovascular isquémica (ECI). Numerosos estudios señalan que la probabilidad de desarrollar enfermedades cardiovasculares se incrementa, cuando el individuo posee padres o hermanos que padecen de algún trastorno cardiovascular u otro que predisponga a padecer de estas (Rotberg y cols., 1978; Ruiz y cols., 1986).

En vista de que las enfermedades cardiovasculares constituyen la principal causa de muerte en Venezuela y en el mundo (Pérez y cols., 1998; Hernández y García, 2007), el análisis de la frecuencia del polimorfismo Val34Leu del Factor XIII de la coagulación en individuos del estado Delta Amacuro, es un aporte para el conocimiento de asociaciones de este polimorfismo como un factor de riesgo cardiovascular, en futuros estudios con pacientes que presentan estas patologías.



## CONCLUSIONES

Las frecuencias de Leu34 encontradas en la ciudad de Tucupita, estado Delta Amacuro (18,00%), son similares a las reportadas en los estados Sucre (18,00%) y Nueva Esparta (17,00%).

Las frecuencias encontradas en este grupo poblacional presentan valores intermedios entre Anzoátegui (15,00%) y Monagas (23,00%).

Las frecuencias genóticas y alélicas encontradas en esta investigación difieren de las reportadas en la mayoría de los grupos poblacionales amerindios.

El alelo Leu34 no parece tener un patrón de distribución dependiente del área geográfica.

Los estrictos criterios de selección permiten controlar los fenómenos de estratificación de las poblaciones, evitando errores de interpretación en estudios posteriores de asociación con patologías de tipo trombótica.

## RECOMENDACIONES

Realizar la determinación del polimorfismo Val34Leu en otros municipios del estado Delta Amacuro tales como Antonio Díaz, Casacoima y Pedernales, utilizando el mismo criterio de selección aplicado en esta investigación y evaluar si se mantienen las mismas tendencias.

Estudiar el polimorfismo Val34Leu en Waraos que habitan en el estado Delta Amacuro, para determinar si sus frecuencias son similares a las obtenidas en este estudio.

Investigar asociaciones del polimorfismo Val34Leu con patologías cardiovasculares tomando en cuenta el nivel de fibrinógeno en los pacientes que se evalúen.

## BIBLIOGRAFÍA

Ajjan, R. y Ariëns, R. 2009. Cardiovascular disease and heritability of the prothrombotic state. Blood Rev., 23: 67-78.

Akar, N.; Dönmez, B. y Deda, G. 2007. FXIII gene Val34Leu polymorphism in Turkish children with cerebral infarct. J. Child Neurol., 22: 222-224.

Aleksic, N.; Ahn, C.; Wang, Y.; Juneja, H.; Folsom, A.; Boerwinkle, E. y Wu, K. 2002. Factor XIII Val34Leu polymorphism does not predict risk of coronary heart disease: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 22: 348-352.

Anwar, R.; Gallivan, L.; Edmonds, S. y Markham, A. 1999. Genotype/phenotype correlations for coagulation factor XIII: specific normal polymorphisms are associated with high or low factor XIII specific activity. Blood, 93: 897-905.

Anwar, R.; Stewart, A.; Miloszewski, K.; Losowsky, M. y Markham, A. 1995. Molecular basis of inherited factor XIII deficiency: identification of multiple mutations provides insights into protein function. Br. J. Haematol., 3: 728-735.

Arends, A.; Chacín, M.; Bravo, M.; Ade, O.; Álvarez, M.; Castillo, O. y Guevara, J. 2008. Hemoglobin variants, hematological parameters and beta-globin gene cluster haplotypes in an isolated Amerindian group from the Orinoco River Delta. Ann. Hum. Biol., 35: 250-255.

Ariëns, R.; Lai, T.; Weisel, J.; Greenberg, C. y Grant, P. 2002. Role of factor XIII in fibrin clot formation and effects of genetic polymorphisms. Blood, 100: 743-754.

Ariëns, R.; Philippou, H.; Nagaswami, C.; Weisel, J.; Lane, D. y Grant, J. 2000. The factor XIII V34L polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and effects crosslinked fibrin structure. Blood, 96: 988-995.

Attié-Castro, F.; Zago, M.; Lavinha, J.; Elion, J.; Rodriguez, L.; Guerreiro, F. y Franco, R. 2000. Ethnic heterogeneity of the factor XIII Val34Leu polymorphism. Thromb. Haemost., 41: 601-603.

Balcells, A. 2006. La clínica y el laboratorio. Veinteava edición. Masson. Barcelona.

Balogh, I.; Szôke, G.; Kárpáti, L.; Wartiovaara, U.; Katona, E.; Komáromi, I.; Haramura, G.; Pfliegler, G.; Mikkola, H. y Muszbek, H. 2000. Val34Leu polymorphism of plasma factor XIII: biochemistry and epidemiology in familial thrombophilia. Blood, 96: 2479-2486.

Bereczky, Z.; Balogh, E.; Katona, E.; Czuriga, I.; Kárpáti, L.; Shemirani, A.; Edes, I. y Muszbek L. 2008. Decreased factor XIII levels in factor XIII A subunit Leu34 homozygous patients with coronary artery disease. Thromb. Res., 121: 469-476.

Bereczky, Z.; Balogh, E.; Katona, E.; Pocsai, Z.; Czuriga, I.; Széles, G.; Kárpáti, L.; Ádány, R.; Édes, I. y Muszbek, L. 2007. Modulation of the risk of

coronary sclerosis/myocardial infarction by the interaction between factor XIII subunit A Val34Leu polymorphism and fibrinogen concentration in the high risk Hungarian population. Thromb. Res., 120: 567-573.

Bermúdez-Pirela, V.; Leal-González, E.; Bermúdez-Arias, F.; Cano, C.; Cabrera, M.; Ambard, M.; Medina, M.; Toledo, A.; Leal, N.; Cano, R.; Mengual, E. y Lemus, M. 2003. El Alcohol: ¿Factor de riesgo o de protección para la enfermedad coronaria?. AVFT., 22: 116-125.

Bernstein, C.; Sargent, M.; Vos, H.; y Rosendaal, F. 2007. Mutations in Clotting Factors and Inflammatory bowel disease. Am. J. Gastroenterol., 102: 338-343.

Boekholdt, S.; Sandhu, M.; Wareham, N.; Luben, R.; Reitsma, P. y Khaw, K. 2006. Fibrinogen plasma levels modify the association between the factor XIII Val34Leu variant and risk of coronary artery disease: the EPIC-Norfolk prospective population study. J. Thromb. Haemost., 10: 2204-2209.

Butt, C.; Zheng, H.; Randell, E.; Robb, D.; Parfrey, P. y Xie, Y. 2003. Combined carrier status of prothrombin 20210A and factor XIII-A Leu34 alleles as a strong risk factor for myocardial infarction: evidence of a gene-gene interaction. Blood, 101: 3037-3041.

Canavy, I.; Henry, M.; Morange, P.; Tiret, L.; Poirier, O.; Ebagosti, A.; Bory, M. y Juhan-Vague, I. 2000. Genetic polymorphisms and coronary artery disease in the south of France. Thromb. Haemost., 83: 212-216.

Case, C.; Lares, M.; Palma, A.; Brito, S.; Pérez, E. y Schroeder, M.

2007. Blood glucose and serum lipid levels in the Venezuelan Warao tribe: possible relationship with moriche fruit (*Mauritia Flexuosa* L.) intake. Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis., 17: 1-2.

Catto, A.; Kohler, H.; Bannan, S.; Stickland, M.; Carter, A. y Grant, P. 1998. Factor XIII Val34Leu: a novel association with primary intracerebral hemorrhage. Stroke, 29: 813-816.

Catto, A.; Kohler, H.; Coore, J.; Mansfield, M.; Stickland, M. y Grant, P. 1999. Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with venous thrombosis. Blood, 93: 906-908.

Cavalli-Sforza, L.; Menozzi, P. y Piazza, A. 1994. The History and Geography of Human Genes. Princeton University Press. Princeton.

Corral, J.; González-Conejero, R.; Ingesta, J.; Rivera, J.; Martínez, C y Vicente, V. 2000a. The FXIII Val34Leu polymorphism in venous and arterial thromboembolism. Haematologica, 85: 293-297.

Corral, J.; Iniesta, J.; González-Conejero, R.; Villalón, M.; Rivera, J. y Vicente, V. 2000b. Factor XIII Val34Leu polymorphism in primary intracerebral haemorrhage. Hematol. J., 1: 269-273.

Corral, J.; Iniesta, J.; González-Conejero, R.; Villalón, M. y Vicente, V. 2001. Polymorphisms of clotting factors modify the risk for primary intracranial hemorrhage. Blood, 97: 2979-2982.

Crow, J. 1999. Hardy, Weinberg and language impediments. Genetics,

152: 821- 825.

Cushman, M.; Cornell, A; Folsom, A.; Wang, L.; Tsai, M.; Polak, J. y Tang, Z. 2007. Associations of the beta-fibrinogen Hae III and factor XIII Val34Leu gene variants with venous thrombosis. Thromb. Res., 121: 339-345.

Dardik, R.; Loscalzo, J.; Eskaraev, R. y Inbal, A. 2005. Molecular mechanisms underlying the proangiogenic effect of factor XIII. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 25: 526-532

Davies, V. “Los Warao pierden el país de agua”. El Nacional, 7 de septiembre de 2001, Pág. C/1.

Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. 2004. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Asamblea General de la AMM 17.C. Tokio, Japón.

De la Red, G.; Tàssies, D.; Espinosa, G.; Monteagudo, J.; Bové, A.; Plaza, J.; Cervera, R. y Reverter, J. 2009. Factor XIII-A subunit Val34Leu polymorphism is associated with the risk of thrombosis in patients with antiphospholipid antibodies and high fibrinogen levels. Thromb. Haemost., 101: 312-316

“Delta Amacuro, estado”. Diccionario de Historia de Venezuela, Fundación Polar. 1997 ed., Tomo 2, págs. 60-62.

Diz-Kucukkaya, R.; Hancer, V.; Inanc, M.; Nalcaci, M. y Pekcelen, Y.

2004. Factor XIII Val34Leu polymorphism does not contribute to the prevention of thrombotic complications in patients with antiphospholipid syndrome. Lupus, 13: 32-35.

Elbaz, A.; Poirier, O.; Canaple, S.; Chédru, F.; Cambien, F. y Amarenco, P. 2000. The association between the Val34Leu polymorphism in the factor XIII gene and brain infarction. Blood, 95: 586-591.

Endler, G.; Funk, M.; Haering, D.; Lalouschek, W.; Lang, W.; Mirafzal, M.; Wagner, O. y Mannhalter, C. 2003. Is the factor XIII 34Val/Leu polymorphism a protective factor for cerebrovascular disease?. Br. J. Haematol., 120: 310-314.

Escalante, B. y Moraleda, L. 1992. Narraciones Warao. Fundación la Salle de Ciencias Naturales. Caracas.

“Etnia Warao”. Catálogo del Patrimonio Cultural Venezolano 2004-2006. 2006 ed., Tomo DA04, Págs. 76-77.

Folkens, C. y Sime, W. 1981. Physical fitness training and mental health. Am. Psychol., 36: 373-389.

Francis, C. y Marder, V. 1988. Increased resistance to plasminic degradation of fibrin with highly crosslinked alpha-polymer chains formed at high factor XIII concentrations. Blood, 71: 1361-1363.

Franco, R.; Pazin-Filho, A.; Tavella, M.; Simões, M.; Marin-Neto, J y Zago, M. 2000. Factor XIII Val34Leu and the risk of myocardial infarction. Haematologica, 85: 67-71.



Franco, R.; Reitsma, P; Lourenço, D.; Maffei, F.; Morelli, V.; Tavella, M.; Araújo, A.; Piccinato, C. y Zago, M. 1999. Factor XIII Val34Leu Is a Genetic Factor Involved in the Aetiology of Venous Thrombosis. Thromb. Haemost., 81: 676-679.

Gaffney, P. y Whitaker, A. 1979. Fibrin crosslinks and lysis rates. Thromb. Res., 14: 85-94.

García, A. 2000. Mendicidad Indígena: Los Waraos Urbanos. Boletín Antropológico, 48: 79-90.

Gemmati, D.; Serino, M.; Ongaro, A.; Tognazzo, S.; Moratelli, S.; Resca, R.; Moretti, M. y Scapoli, G. 2001. A common mutation in the gene for coagulation Factor XIII-A (Val34Leu): a risk factor for primary intracerebral hemorrhage is protective against atherothrombotic diseases. Am. J. Hematol., 67: 183-188.

Gemmati, D.; Tognazzo, S.; Catozzi, L.; Federici, F.; De Palma, M.; Giancesini, S.; Scapoli, G.; De Mattei, M.; Liboni, A.; y Zamboni, P. 2006. Influence of gene polymorphisms in ulcer healing process after superficial venous surgery. J. Vasc. Surg., 44: 554-562.

Gemmati, D.; Tognazzo, S.; Serino, M.; Fogato, L.; Carandina, S.; De Palma, M.; Izzo, M.; De Mattei, M.; Ongaro, A.; Scapoli, G.; Caruso, A.; Liboni, A. y Zamboni, P. 2004. Factor XIII V34L polymorphism modulates the risk of chronic venous leg ulcer progression and extensión. Wound Rep. Reg., 12: 512-517.

Greenberg, C.; Sane, D. y Lai, T. 2006. Factor XIII and fibrin stabilization. In: Hemostasis and Thrombosis. Colman, R.; Marder, V.; Clowes, A.; George, J. y Goldhaber, S. (eds). Philadelphia: Lippincott. Williams and Wilkins. Fifth edition. Philadelphia. Págs. 153-181.

Hagel, I.; Cabrera, M.; Buvat, E.; Gutiérrez, L.; Santaella, C.; Borges, R.; Infante, B.; Salas, M. y Barrios, Y. 2008. Antibody responses and resistance against *Ascaris lumbricoides* infection among Venezuelan rural children: the influence of ethnicity. J. Trop. Pediatr., 10: 14-17.

Hancer, V., Diz-Kucukkaya, R.; Bilge, A.; Ozben, B.; Oncul, A.; Ergen, G. y Nalcaci, M. 2006. The Association Between Factor XIII Val34Leu Polymorphism and Early Myocardial Infarction. Circ. J., 70: 239-242.

Hancer, V.; Diz-Kucukkaya, R. y Nalcaci, M. 2005. Turkish population data on the factor XIII Val34Leu, glycoprotein (GP) Ib\_Kozak and P-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) loci. Cell. Biochem. Funct., 23: 55-58.

Henry, M.; Morange, P.; Canavy, I.; Alessi, M. y Juhan-Vague, I. 1999. Rapid detection of factor XIII Val34Leu by allele specific PCR. Thromb. Haemost., 81: 463-464.

Hernández, M. y García, H. 2007. Factores de riesgo y protectores de enfermedades cardiovasculares en población estudiantil universitaria. RFM., 30: 119-123.

Hoppe, B.; Tolou, F.; Dörner, T.; Kiesewetter, H y Salama, A. 2006.

Gene polymorphisms implicated in influencing susceptibility to venous and arterial thromboembolism: Frequency distribution in a healthy German population. Thromb. Haemost., 96: 465-470.

Ichinose, A.; Bottenus, R. y Davie, E. 1990. Structure of transglutaminases. J. Biol. Chem., 23: 13411-13414.

Izaguirre, M.; Vívenes, M.; Rodríguez-Larralde, A. y Castro, D. 2008. Prevalencia del polimorfismo Val34Leu del Factor XIII-A de la coagulación en la región Centro Occidental de Venezuela. I Congreso Latinoamericano de Genética Humana. Cartagena de Indias, Colombia.

Jiménez, Y. 2007. Polimorfismo Val34Leu del FXIII de la coagulación en individuos aparentemente sanos del estado Anzoátegui. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Jung, D.; Yoo, G. y Choi J. 1998. Mixed-dye staining method for protein detection in polyacrylamide gel electrophoresis using calconcarboxylic acid and rhodamine B. Electrophoresis, 14: 2412-2415.

Kain, K.; Bamford, J.; Bavington, J.; Young, J. y Catto, A. 2005. Factor XIII-circulating levels and Val34Leu polymorphism in relatives of South Asian patients with ischemic stroke. J. Thromb. Haemost., 3: 171-173.

Kangsadalampai, S. y Board, P. 1998. The Val34Leu polymorphism in the A subunit of coagulation factor XIII contributes to the large normal range in activity and demonstrates that the activation peptide plays a role in catalytic activity. Blood, 92: 2766-2770.

Ki-Hyun, C.; Byeong-Chae, K.; Myeong-Kyu, K. y Boo-Ahn, S. 2002. No association of factor XIII Val34Leu polymorphism with primary intracerebral hemorrhage and healthy controls in Korean population. J. Korean Med. Sci., 17: 249-53.

Kobbervig, C. y Williams, E. 2004. FXIII polymorphisms, fibrin clot structure and thrombotic risk. Biophys. Chem., 112: 223-228.

Lahiri, D y Nurnberger, J. 1991. A rapid non-enzimatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. Nucl. Acids Res., 19: 5444.

Lavandero, J. 2008. Los indígenas guaraos y la edad del palo. Venezuela Misionera, 628: 9-12.

Le Gal, G.; Delahousse, B.; Lacut, K.; Malaviolle, V.; Regina, S.; Blouch, M.; Couturaud, F.; Mottier, D.; Oger, E. y Gruel, Y. 2007. Fibrinogen Aalpha-Thr312Ala and factor XIII-A Val34Leu polymorphisms in idiopathic venous thromboembolism. Thromb. Res., 121: 333-338.

Lizot, J. 1988. Los Yamomami en Los aborígenes de Venezuela. Etnología Contemporánea. Fundación La Salle-Monte Ávila, Caracas.

Madi, I. 1987. Bibliografía del Territorio Federal Delta Amacuro. Instituto Autónomo Biblioteca Nacional y de Servicios de Bibliotecas. Caracas.

Mannila, M.; Eriksson, P.; Ericsson, C.; Hamsten, A. y Silveira, A. 2006. Epistatic and pleiotropic effects of polymorphisms in the fibrinogen and coagulation factor XIII genes on plasma fibrinogen concentration, fibrin gel

structure and risk of myocardial infarction. Thromb. Haemost., 95: 420-427.

Mannila, M.; Eriksson, P.; Leander, K.; Wiman, B.; De Faire, U.; Hamsten, A. y Silveira, A. 2007. The association between fibrinogen haplotypes and myocardial infarction in men is partly mediated through pleiotropic effects on the serum IL-6 concentration. J. Intern. Med., 261: 138-147.

Manzur, F. y Arrieta, C. 2005. Estudio sociológico y del conocimiento de los factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares en la Costa Caribe Colombiana (Estudio Caribe). Rev. Col. Cardiol., 12: 122-128.

Marín, C. 1981. Historia del Territorio Federal Delta Amacuro. Ediciones de La Presidencia de La República. Caracas.

Marín, F.; Corral, J.; Roldán, V.; González-Conejero, R.; Rey, M.; Sogorb, F.; Lip, G. Vicente, V. 2004 Factor XIII Val34Leu polymorphism modulates the prothrombotic and inflammatory state associated with atrial fibrillation. J. Mol. Cell. Cardiol., 37: 699-704.

Marín, F.; López, F.; González-Conejero, R.; Roldán, V.; Lee, K.; Corral, J.; Sogorb, F.; Lip, G.; Caturla, J. y Vicente, V. 2005. El Polimorfismo Val34Leu del Factor XIII condiciona una peor respuesta al tratamiento fibrinolítico en el infarto de miocardio. Latido, 6: 226-229.

Martínez, H. 2003. Determinación de las frecuencias alélicas de los grupos sanguíneos y polimorfismos del ADN para dos estratos socioeconómicos de la población de Caracas. Trabajo de pregrado, Facultad de Bioanálisis Universidad Central de Venezuela, Caracas.

Mata, H. "Estado Delta Amacuro". Araguaey, 1 de septiembre de 2002. Pág. 18.

McKenzie, S. 2000. Hematología Clínica. Segunda edición. El Manual Moderno. México D.F.

Mikkola, H.; Syrjala, M. y Rasi, V. 1994. Deficiency in the A-subunit of coagulation factor XIII: two novel point mutations demonstrate different effects on transcript levels. Blood, 84: 517-525.

"Monagas". Atlas Geográfico Universal y de Venezuela. 2003 ed., Págs. LII-LIII.

Muszbek, L.; Bagoly, Z.; Bereczky, Z. y Katona, E. 2008. The involvement of blood coagulation factor XIII in fibrinolysis and thrombosis. Cardiovasc. Hematol. Agents. Med. Chem., 6: 190-205.

Parmeggiani, F.; Costagliola, C.; Incorvaia, C.; Gemmati, D.; D'Angelo, S.; Tognazzo, S.; Scapoli, G. y Sebastiani, A. 2004. Prevalence of Factor XIII Val34Leu polymorphism in patients affected by spontaneous subconjunctival hemorrhage. Am. J. Ophthalmol., 138: 481-484.

Pérez, G.; Pena, A.; Sala, J.; Roset, P.; Masia R. y Marrugat, J. 1998. Acute myocardial infarction case fatality, incidence and mortality rates in a population registry in Gerona, Spain, 1990-1992. Int. J. Epidemiol., 27: 599-604.

"Proyecciones de población con base Censo 2001, Estado Delta

Amacuro". "Instituto Nacional de Estadística" <[http://www.ine.gov.ve/secciones/menuprincipal.asp?nedo=10&Entid=100000&seccion=1&nvalor=1\\_1](http://www.ine.gov.ve/secciones/menuprincipal.asp?nedo=10&Entid=100000&seccion=1&nvalor=1_1)> (16/60/09).

Rallidis, L.; Politou, M.; Komporozos, C.; Panagiotakos, D.; Belessi, C.; Travlou, A.; Lekakis, J. y Kremastinos, D. 2008. Factor XIII Val34Leu polymorphism and the risk of myocardial infarction under the age of 36 years. Thromb. Haemost., 99: 1085-1089.

Reed, T. y Schull, W. 1968. A general maximum likelihood estimation program. Am. J. Hum. Genet., 6: 579-580.

Reiner, A.; Frank, M.; Schwartz, S.; Linenberger, M.; Longstreth, W.; Teramura, G.; Rosendaal, F.; Psaty, B. y Siscovick, D. 2002. Coagulation factor FXIII polymorphisms and the risk of myocardial infarction and ischaemic stroke in young women. Br. J. Haematol., 116: 376-382.

Rodríguez-Larralde, A.; Castro, D.; González-Coira, M. y Morales, J. 2001. Frecuencia génica y porcentaje de mezcla en diferentes áreas geográficas de Venezuela, de acuerdo a los grupos Rh y ABO. Interciencia, 26: 8-12

Rodríguez-Larralde, A.; Morales, J. y Barraí, I. 2000. Surname frequency and the isonymy structure of Venezuela. Am. J. Hum. Biol., 12: 352-362.

Roldán, V.; Corral, J.; Marín, F.; Rivera, J.; Pineda, P.; González-Conejero, R.; Sogorb, F. y Vicente, V. 2003. Role of factor XIII Val34Leu polymorphism in patients <45 years of age with acute myocardial infarction.

Am. J. Cardiol., 91: 1242-1245.

Rotberg, T.; Segovia, E. y Gorodezky, M. 1978. Myocardial reinfarction in male and female. Arch. Inst. Cardiol. Mex., 48: 631-652.

Ruiz-Moreno, M.; Gutiérrez-Gutiérrez, M.; Rincón, P.; Alvarez-Sala, L. y Camps, M. 1986. Moderate hypercholesterolemia in children. An index of familial pathology?. An. Esp. Pediatr., 25: 322-328.

Saibeni, S.; Vecchi, M.; Faioni, E.; Franchi, F.; Rondonotti, E.; Borsi, G. y De Franchis, R. 2003. Val34Leu factor XIII polymorphism in Italian patients with inflammatory bowel disease. Dig. Liver Dis., 35: 32-36.

Saiki, R.; Gelfand, D.; Stoffel, S.; Scharf, S.; Higuchi, R.; Horn, G.; Mullis, K. y Erlich, H. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science, 239: 487-491.

Salazar-Quijada, A. 1991. Botón de Bora. Biblioteca de Temas y Autores Deltanos. Tucupita.

Salazar-Sánchez, L; Leon, M.; Cartin, M.; Schuster, G.; Wulff, K.; Schröder, W.; Jiménez-Arce, G.; Chacon, R. y Herrmann, F. 2007. The FXIIIVal34Leu, common and risk factors of venous thrombosis in early middle-age Costa Rican patients. Cell. Biochem. Funct., 25: 739-745.

Salzano, F. y Bortolini, M. 2002. The evolution and Genetics of Latin American populations. Cambridge University Press. Cambridge.

Sans-Sabrafen, J.; Besses, C. y Vives, J. 2006. Hematología Clínica.



Quinta edición. Elsevier. Madrid.

Schwartz, M.; Pizzo, S.; Hill, R. y McKee, P. 1973. Human factor XIII from plasma and platelets: molecular weights, subunit structures, proteolytic activation, and crosslinking of fibrinogen and fibrin. J. Biol. Chem., 248: 1359-1407.

Shafey, M.; Anderson, J.; Scarvelis, D.; Doucette, S.; Gagnon, F. y Wells, P. 2007. Factor XIII Val34Leu variant and the risk of myocardial infarction: a meta-analysis. Thromb. Haemost., 97: 635-641.

Shemirani, A.; Antalffy, B.; Pongracz, E. y Muszbek, L. 2009. Factor XIII Val34Leu polymorphism in patients surviving or not surviving ischemic stroke. Thromb. Haemost., 123: S157 (abstract).

Slowik, A.; Dziedzic, T.; Pera, J.; Figlewicz, D. y Szczudlik, A. 2005. Coagulation factor XIII Val34Leu polymorphism in patients with small vessel disease or primary intracerebral hemorrhage. Cerebrovasc. Dis., 19: 165-170.

Thomas, D. y Witte, J. 2002. Point: population stratification: a problem for case-control studies of candidate-gene associations?. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 11: 505-512.

Tognazzo, S.; Gemmati, D.; Palazzo, A.; Catozzi, L.; Carandina, S.; Legnaro, A.; Tacconi, G.; Scapoli, G. y Zamboni, P. 2006. Prognostic role of factor XIII gene variants in nonhealing venous leg ulcers. J. Vasc. Surg., 44: 815-819.

Undas, A.; Sydor, W.; Brummel, K.; Musial, J.; Mann, K. y Szczeklik, A.

2003. Aspirin Alters the Cardioprotective Effects of the Factor XIII Val34Leu Polymorphism. Circulation., 107: 17-20.

Vívenes, M. 2005. Polimorfismo en el gen que codifica para la subunidad A del Factor XIII de la coagulación y su relación con la actividad, en individuos aparentemente sanos provenientes de la región nororiental del país. Tesis de grado para optar al título de Doctor en Ciencias, mención Genética Humana. Centro de Estudios Avanzados, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Altos de Pipe.

Vívenes, M.; Izaguirre, M.; Rodríguez-Larralde, A. y Castro, D. 2008a. Distribución de FXIII Val34Leu en individuos de dos estratos socioeconómicos de la ciudad de Caracas, Venezuela. VII Congreso Científico de la Universidad de Oriente, Guatamare, estado Nueva Esparta.

Vívenes, M.; Rodríguez-Larralde, A.; Castro, D. 2005. Genética de poblaciones en la región nor-oriental de Venezuela. Avances en Genética, 9: 15-25.

Vívenes, M.; Rodríguez-Larralde, A.; Guerrero, B. y Castro, D. 2008b Ethnic/Geographic Variation Of The Val34leu Polymorphism Of Coagulation Factor XIII And Its Distribution In American Admixed Populations. The Internet Journal of Biological Anthropology. Volume 2 Number 1.

Vokó, Z.; Bereczky, Z.; Katona, E.; Ádány, R. y Muszbek, L. 2007. Factor XIII Val34Leu variant protects against coronary artery disease. A meta-analysis. Thromb. Haemost., 97: 458-463.

Vossen, C. y Rosendaal, F. 2005. The protective effect of the factor XIII

Val34Leu mutation on the risk of deep venous thrombosis is dependent on the fibrinogen level. J. Thromb. Haemost., 3: 1102-1103.

Wang, S.; Lewis, C.; Jakobsson, M.; Ramachandran, S.; Ray, N.; Bedoya, G.; Rojas, W.; Parra, M.; Molina, J.; Gallo, C.; Mazzotti, G.; Poletti, G.; Hill, K.; Hurtado, A.; Labuda, D.; Klitz, W.; Barrantes, R.; Bortolini, M.; Salzano, F.; Petzl-Erler, M.; Tsuneto, L.; Llop, E.; Rothhammer, F.; Excoffier, L.; Feldman, M.; Rosenberg, N. y Ruiz-Linares, A. 2007. Genetic Variation and Population Structure in Native Americans. PLoS Genet., 11: 2046-2067.

Wartiovaara, U.; Perola, M.; Mikkola, H.; Tottermann, K.; Savolainen, V.; Penttila, A.; Grant, P.; Tikkanen, M.; Vartiainen, E.; Karhunen, P.; Peltonen, L. y Palotie, A. 1999. Association of FXIII Val34Leu with decreased risk of myocardial infarction in Finnish males. Atherosclerosis, 142: 295-300.

Webb, G.; Coggan, M.; Ichinose, A. y Board, P. 1989. Localization of the coagulation factor XIII B subunit gene (F13B) to chromosome bands 1q31-32.1 and restriction fragment length polymorphism at the locus. Hum. Genet., 81: 157-160.

Weger, M.; Renner, W.; Stanger, O.; Schmut, O.; Deutschmann, H.; Wascher, T. y Haas, A. 2001. Role of Factor XIII Val34Leu Polymorphism in Retinal Artery Occlusion. Stroke, 32: 2759-2761.

Wells, P.; Anderson, J.; Scarvelis, D.; Doucette, S. y Gagnon, F. 2006. Factor XIII Val34Leu Variant Is Protective against Venous Thromboembolism: A HuGE Review and Meta-Analysis. Am. J. Epidemiol., 164: 101-109.

## ANEXOS

### ANEXO 1

Ubicación geográfica de la ciudad de Tucupita en el estado Delta Amacuro



## ANEXO 2

### HISTORIA POBLACIONAL

Encuestador: \_\_\_\_\_ N° Ficha: \_\_\_\_\_  
Lugar Evaluación: \_\_\_\_\_ Fecha Evaluación: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

#### DATOS PERSONALES:

Nombres y Apellidos: \_\_\_\_\_  
Sexo: Femenino  Masculino  Fecha de Nacimiento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_  
Lugar de Nacimiento: \_\_\_\_\_  
De la Madre: \_\_\_\_\_ Del Padre: \_\_\_\_\_  
Abuela Materna: \_\_\_\_\_ Abuelo Materno: \_\_\_\_\_  
Abuela Paterna: \_\_\_\_\_ Abuelo Paterno: \_\_\_\_\_  
Estado Civil: Soltero  Casado  Concubinato  Divorciado  Viudo   
Dirección Habit.: \_\_\_\_\_  
Teléfonos: \_\_\_\_\_

Nivel de Instrucción: Analfabeta  Lee y Escribe   
Primaria Completa  Incompleta  Estudiando   
Media Completa  Incompleta  Estudiando   
Técnica Media Completa  Incompleta  Estudiando   
Técnica Superior Completa  Incompleta  Estudiando   
Universitaria Completa  Incompleta  Estudiando   
Profesión (Título): \_\_\_\_\_ Ocupación: \_\_\_\_\_  
Ama de Casa  Empleado  Comerciante o Productor  Obrero Especializado   
Obrero No Especializado  Trabajo Informal  Desempleado   
Otros  : \_\_\_\_\_ Es Jefe de Familia: Sí  No

#### HISTORIA CLÍNICA:

Enfermedad Cardiovascular Isquémica: No  Sí  Medicación: \_\_\_\_\_  
Tiempo: \_\_\_\_\_ Antecedentes Fam.: Padre  Madre  Hermanos  Familiar   
Accidente Cerebro Vascular: No  Sí  Medicación: \_\_\_\_\_  
Tiempo: \_\_\_\_\_ Antecedentes Fam.: Padre  Madre  Hermanos  Familiar   
Diabetes: No  Sí  Tipo: \_\_\_\_\_ Medicación: \_\_\_\_\_  
Tiempo: \_\_\_\_\_ Antecedentes Fam.: Padre  Madre  Hermanos  Familiar   
Hipertensión Arterial: No  Sí  Medicación: \_\_\_\_\_  
Tiempo: \_\_\_\_\_ Antecedentes Fam.: Padre  Madre  Hermanos  Familiar   
Hipercolesterolemia: No  Sí  Medicación: \_\_\_\_\_  
Tiempo: \_\_\_\_\_ Antecedentes Fam.: Padre  Madre  Hermanos  Familiar   
Hipertrigliceridemia: No  Sí  Medicación: \_\_\_\_\_  
Tiempo: \_\_\_\_\_ Antecedentes Fam.: Padre  Madre  Hermanos  Familiar   
Hiperinsulinemia: No  Sí  Medicación: \_\_\_\_\_  
Tiempo: \_\_\_\_\_ Antecedentes Fam.: Padre  Madre  Hermanos  Familiar   
Anticonceptivos: No  Sí  Tipo: \_\_\_\_\_ Terapia de Reemplazo Hormonal: No  Sí   
N° de Hijos: \_\_\_\_\_ Abortos: No  Sí  Cuántos: \_\_\_\_\_ Edad última menstruación: \_\_\_\_\_  
Hormonas: No  Sí  Estrógeno  Progesterona  Testosterona  Tiroides  Tiempo: \_\_\_\_\_

Enfermedades Inflamatorias Crónicas, Infecciones Odontológicas, Intervenciones Quirúrgicas,  
Otros: \_\_\_\_\_

**CONSUMO DE TABACO:**

No Fuma  Ex fumador  Fumador

Tipo: Cigarrillo  Pipa  Tabaco  Chimo  Cantidad al día: < 5  6 a 10  > 10

Tiempo fumando: > 5 años  < 5 años  Tiempo sin fumar: > 5 años  < 5 años

**CONSUMO DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS:**

Diario  Interdiario  1-3 veces x Semana  1-3 veces x Mes  Ocasional  Nunca

Tipo de bebida que consume con mayor frecuencia: Cerveza  Ron  Whisky  Vino

Otras  : \_\_\_\_\_ Cantidad: \_\_\_\_\_

**ACTIVIDAD FÍSICA:**

Caminar: No  Sí  En plano  Subida  Tiempo: > 1 h  30-55 min  < 30 min

Manejo de Carga Pesada: Sí  No  Deportes: Sí  No  Tipo: \_\_\_\_\_

Frecuencia: Diario  Semanal  Esporádico  Tiempo por sesión de ejercicio: \_\_\_\_\_

**HÁBITOS NUTRICIONALES:**

Alimentos	Frecuencia de Consumo					
	Diario	Interdiario	1-3 veces x Semana	1-3 veces x Mes	Ocasional	Nunca
Leche completa						
Leche descremada						
Café con leche						
Café solo						
Carne de res						
Carne de cerdo						
Pollo						
Pescado						
Huevos						
Queso Amarillo						
Queso Blanco						
Mantequilla						
Margarina						
Mayonesa						
Aceite de: _____						
Manteca						
Vegetales Cocidos						
Ensaladas						
Tubérculos						
Granos						
Frutas						
Cereales						
Azúcar Añadida						
Postres						
Sal añadida						

Nº Ficha: \_\_\_\_\_

Nombres y Apellidos: \_\_\_\_\_

**DATOS SOCIO-ECONÓMICOS:**

**1. Profesión del Jefe de Familia:**

- 1.1.  Profesión universitaria, alto comerciante con posición gerencial, oficial de las FAN.
- 1.2.  Profesión técnica o medianos comerciantes o productores.
- 1.3.  Empleados sin profesión universitaria o técnica media, pequeños comerciantes o productores.
- 1.4.  Obreros especializados: tractoristas, choferes, albañiles, etc.
- 1.5.  Obreros no especializados: buhoneros, servicio doméstico, jornaleros, barrenderos, etc.

**2. Nivel de Instrucción de la Madre:**

- 2.1.  Enseñanza universitaria o su equivalente.
- 2.2.  Enseñanza secundaria completa o técnica superior.
- 2.3.  Enseñanza secundaria incompleta o técnica inferior.
- 2.4.  Enseñanza primaria o alfabeta.
- 2.5.  Analfabeta.

**3. Fuente de Ingresos de la Familia:**

- 3.1.  Fortuna heredada o adquirida.
- 3.2.  Ganancias, beneficios, honorarios profesionales.
- 3.3.  Sueldo mensual.
- 3.4.  Salario semanal, por un día o por tarea a destajo.
- 3.5.  Donaciones de origen público o privado.

**4. Calidad de la Vivienda:**

- 4.1.  Vivienda con óptimas condiciones sanitarias en ambientes de lujo.
- 4.1.  Vivienda con óptimas condiciones sanitarias en ambientes, sin lujo, pero espaciosa.
- 4.3.  Vivienda con buenas condiciones sanitarias en espacios reducidos.
- 4.4.  Vivienda con ambientes espaciosos o reducidos, con deficiencias en condiciones sanitarias.
- 4.5.  Rancho o vivienda con una habitación y condiciones sanitarias inadecuadas.

Clasificación: 1. \_\_\_\_\_ 2. \_\_\_\_\_ 3. \_\_\_\_\_ 4. \_\_\_\_\_ Total: \_\_\_\_\_ Estrato: \_\_\_\_\_

Nº Ficha: \_\_\_\_\_

Nombres y Apellidos: \_\_\_\_\_

**DATOS ANTROPOMÉTRICOS:**

1. Peso (Kg): \_\_\_\_\_
2. Estatura (cm): \_\_\_\_\_
3. Circunferencia de la Cintura (cm): \_\_\_\_\_
4. Circunferencia de la Cadera (cm): \_\_\_\_\_

**EXÁMENES DE LABORATORIO:**

Hemoglobina: \_\_\_\_\_

Hematocrito: \_\_\_\_\_

Glóbulos Rojos: \_\_\_\_\_

Glóbulos Blancos: \_\_\_\_\_

HCM: \_\_\_\_\_

CHCM: \_\_\_\_\_

VCM: \_\_\_\_\_

Plaquetas: \_\_\_\_\_

Glicemia: \_\_\_\_\_

Colesterol Total: \_\_\_\_\_

Triglicéridos: \_\_\_\_\_

Colesterol HDL: \_\_\_\_\_

Colesterol LDL: \_\_\_\_\_

Colesterol VLDL: \_\_\_\_\_

Índices Hematimétricos:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Riesgo Cardíaco:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Otros:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## ANEXO 3

### INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE

En el Departamento de Bioanálisis de la Universidad de Oriente, Núcleo Sucre y en el Laboratorio de Genética Humana del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) se lleva a cabo el proyecto de investigación titulado “**Estructura genética de la población híbrida venezolana**”, con el objeto de conocer las frecuencias de varios marcadores genéticos en nuestra población, y con ellas calcular la contribución de los distintos grupos raciales en su formación y estudiar la relación existente entre distintas zonas geográficas del país, información que también será de gran utilidad para pruebas de paternidad y de genética forense.

Su participación en el proyecto consiste en donar, de manera voluntaria, al Departamento de Bioanálisis de la UDO, núcleo Sucre y al IVIC, una muestra de sangre de 5 cc, la cual le será tomada por una persona capacitada y autorizada por el referido equipo, con una inyectadora, de la vena del antebrazo, el cual será desinfectado con alcohol. También deberá responder las preguntas de una encuesta que contiene datos personales y socioeconómicos, realizada por una persona capacitada y con carácter confidencial.

La muestra sanguínea a donar será utilizada única y exclusivamente para determinar marcadores genéticos presentes en nuestras células.

Las muestras serán almacenadas por la Dra. Merlyn Vívenes de la Universidad de Oriente, o por los Doctores Alvaro Rodríguez y Dinorah Castro del Laboratorio de Genética Humana del IVIC, para ser utilizadas en futuras investigaciones relacionadas con frecuencias de marcadores genéticos en poblaciones venezolanas, previa aprobación de la Comisión de Bioética del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).

Los estudios realizados en las muestras de sangre por Ud. donadas, no tendrán ningún costo económico para usted.

Su participación en dicho estudio no implica riesgo ni inconveniente alguno adicional para su salud. Usted puede retirarse del proyecto en cualquier momento, sin que ello conlleve algún tipo de consecuencia negativa para usted.

Los resultados obtenidos en el presente estudio solamente serán usados con fines académicos.

El equipo de investigadores le garantiza confidencialidad relacionada tanto con su identidad como con la de cualquier información relativa a su persona a la que se tenga acceso por concepto de su participación en el proyecto antes mencionado.

Cualquier pregunta que tenga en relación con este estudio, le será respondida oportunamente por parte del equipo de investigadores antes mencionado con quienes se puede comunicar por los teléfonos: 0212-5041491/1138 del Dr. Alvaro Rodríguez en el Laboratorio de Genética Humana del IVIC.

### CONSENTIMIENTO VALIDO

Yo, \_\_\_\_\_ C.I.: \_\_\_\_\_  
Nacionalidad \_\_\_\_\_ Estado Civil \_\_\_\_\_ Domiciliado en: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ siendo mayor de 18 años en uso pleno de mis facultades mentales, en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio que mas abajo indico, y sin que medie coacción ni violencia alguna, declaro mediante la presente:

1.- Haber sido informado de manera objetiva, clara y sencilla, por parte de representantes del grupo de Investigadores del Departamento de Bioanálisis de la UDO núcleo Sucre y del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), coordinados por la Dra. Merlyn Vivenes y el Dr. Alvaro Rodríguez, de todos los aspectos relacionados al proyecto **“Estructura genética de la población híbrida venezolana”**

2.- Tener conocimiento claro de que el objetivo fundamental del trabajo antes señalado es: conocer las frecuencias de varios marcadores genéticos en la población venezolana y con ellas calcular la contribución de los distintos grupos raciales en su formación y estudiar la relación existente entre distintas zonas geográficas del país, información que también será de gran utilidad para pruebas de paternidad y de genética forense.

3.- Haber sido informado en qué consiste mi participación en el proyecto.

4.- Que estoy de acuerdo en el uso, para fines académicos, de los resultados obtenidos en el presente estudio.

5.- Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir algún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto de investigación.

6.- Que la muestra de sangre por mí donada, permanecerá bajo la custodia de la Dra. Merlyn Vivenes en la Universidad de Oriente, o del Dr. Álvaro Rodríguez y de la Dra. Dinorah Castro en el Laboratorio de Genética Humana del IVIC.

7.- Si existiera excedente de sangre en este estudio:

Autorizo a que sea guardado bajo la custodia de los doctores arriba mencionados, y utilizado en futuros estudios sobre características hereditarias, previa autorización del Comité de Bioética del IVIC, siempre y cuando sus resultados sean utilizados sólo con fines académicos y no comerciales.

No autorizo a que se guarde el excedente de células y/o ADN.

8.- Que cualquier pregunta que tenga en relación con este estudio, le será respondida oportunamente por parte del equipo de investigadores antes mencionado con quienes me puedo comunicar por los teléfonos 0212-5041491/1138 del Dr. Alvaro Rodríguez en el Laboratorio de Genética Humana del IVIC.

**DECLARACIÓN DEL VOLUNTARIO:**

Luego de haber leído, comprendido y recibido las respuestas a mis preguntas con respecto a esta planilla de consentimiento y por cuanto mi participación en este estudio es totalmente voluntaria acuerdo:

A.- Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigadores del Departamento de Bioanálisis del la UDO núcleo Sucre y del Laboratorio de Genética Humana del IVIC a realizar el referido estudio en la muestra de sangre que acepto donar a los fines indicados anteriormente.

B.- Reservarme el derecho de revocar esta autorización así como mi participación en el proyecto, en cualquier momento, sin que ello conlleve algún tipo de consecuencia negativa para mi persona.

<p style="text-align: center;">Firma del Voluntario</p> Nombre: C.I. Lugar: Fecha:	<p style="text-align: center;">Firma del Investigador</p> Nombre: C.I. Lugar : Fecha:
<p style="text-align: center;">Firma del Testigo</p> Nombre: C.I. Lugar : Fecha:	

DECLARACIÓN DE LOS INVESTIGADORES PRINCIPALES:

Luego de haber explicado detalladamente al voluntario la naturaleza del protocolo mencionado, certificamos, mediante la presente, que a nuestro leal saber, el sujeto que firma este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación en este estudio. Ningún problema de índole médica, de idioma o de instrucción ha impedido al sujeto tener una clara comprensión de su compromiso con este estudio.

Por el Departamento de Bioanálisis, UDO	Por el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas
Firma	Firma
Nombre: Lugar: Fecha:	Nombre: Lugar: Fecha:

## ANEXO 4

Frecuencias de Leu34 en poblaciones aparentemente sanas, provenientes de varios países.

Grupo humano por continente	N (cromosomas)	Frecuencia de Leu %	Referencia
A -Europeos			
España Mediterránea			
Murcia	232	19,10	Corral y cols., 2000a
Murcia	912	19,00	Corral y cols., 2000b
Murcia	402	18,90	Corral y cols., 2001
Provincias mediterráneas	1170	20,42	Roldán y cols., 2003
Alicante	1170	20,40	Marín y cols., 2004
Alicante	246	19,50	Marín y cols., 2005
Barcelona	344	16,00	De la Red y cols., 2009
Turquía			
Estambul	372	19,10	Diz-Kucukkaya y cols., 2004
Estambul	406	19,50	Hancer y cols., 2005
Estambul	260	19,23	Hancer y cols., 2006
Italia			
Ferrara	400	24,75	Gemmati y cols., 2001
Milán	260	19,62	Saibeni y cols., 2003
Ferrara	390	24,87	Gemmati y cols., 2004
Ferrara	214	21,03	Parmeggiani y cols., 2004
Ferrara	204	23,53	Tognazzo y cols., 2006
Polonia			
Cracovia	74	21,62	Undas y cols., 2003
Grecia			
Atenas y Pireo	242	26,40	Rallidis y cols., 2008
Francia			
Marsella	488	26,00	Canavy y cols., 2000
París	912	28,80	Elbaz y cols., 2000
Brest	572	28,50	Le Gal y cols., 2007
Portugal			
Caucásicos	96	24,00	Attié-Castro y cols., 2000
Hungría			
Debrecen	576	25,90	Balogh y cols., 2000
Debrecen	2292	25,90	Bereczky y cols., 2007
Suecia			
Estocolmo	774	25,80	Mannila y cols., 2006
Estocolmo	3122	25,65	Mannila y cols., 2007
Países Bajos			
Leiden	948	24,00	Vossen y cols., 2005
Reino Unido			
Leeds	870	23,70	Catto y cols., 1998
Leeds	508	29,70	Catto y cols., 1999
Leeds	226	17,70	Anwar y cols., 1999
Norfolk	3160	26,10	Boekholdt y cols., 2006

Continuación...

Grupo humano por continente	N (cromosomas)	Frecuencia de Leu %	Referencia
Austria			
Graz	262	30,50	Weger y cols., 2001
Viena	738	28,32	Endler y cols., 2003
Finlandia	400	22,50	Wartiovaara y cols., 1999
Laponia	n/r	21,00	"
Kainuu	n/r	13,00	"
Helsinki	n/r	28,00	"
Western	n/r	28,00	"
Alemania			
Alemanes	28	11,00	Kangsadalampai y Board, 1998
Rusia			
Rusos 1	42	24,00	Kangsadalampai y Board, 1998
Rusos 1	564	27,10	Hoppe y cols., 2006
<u>B -Australianos</u>			
Australia (caucásicos)			
Camberra	300	27,00	Kangsadalampai y Board, 1998
<u>C -Africanos</u>	198	18,10	Attíe-Castro y cols., 2000
Zaire	66	24,30	"
Camerún	68	11,80	"
Angola	64	18,80	"
<u>D -Asiáticos</u>			
Japón 1	80	1,30	Attíe-Castro y cols., 2000
Japón 2	92	1,10	Kangsadalampai y Board, 1998
Corea	96	0,00	Ki-Hyun y cols., 2002
Sur de Asia	292	13,5	Kain y cols., 2005
Indoasiáticos	122	16,4	Marín y cols., 2005
<u>E -Americanos</u>			
Norte Americanos (EE.UU)			
Caucásicos	752	25,30	Cushman y cols., 2007
Washington	690	25,80	Reiner y cols., 2002
Texas			Aleksic y cols., 2002
Caucásicos	720	22,40	"
Afroamericanos	238	19,50	"
Canadá			
Newfoundland	1000	27,10	Butt y cols., 2003
Manitoba	738	25,30	Bernstein y cols., 2007
Brasil			
São Paulo	374	25,50	Franco y cols., 1999
São Paulo	300	28,30	Franco y cols., 2000
Caucásicos	98	30,60	Attíe-Castro y cols., 2000
Afrobrasileños	100	14,00	"
Costa Rica			
San José	266	30,50	Salazar-Sánchez y cols., 2007

Continuación...

Grupo humano por continente	N (cromosomas)	Frecuencia de Leu %	Referencia
Venezuela			
Anzoátegui	130	15,00	Jiménez, 2007
Monagas	82	23,00	Vívenes y cols., 2008b
Sucre	200	18,00	"
Nueva Esparta	90	17,00	"
Falcón	214	18,70	Izaguirre y cols., 2008
Lara	164	20,20	Izaguirre y cols., 2008
Distrito Capital			
Estrato socioeconómico alto	102	12,00	Vívenes y cols., 2008a
Estrato socioeconómico bajo	96	31,00	
Nativos Americanos	164	29,3	Attié-Castro y cols., 2000
Wayampi	10	30,0	"
Wayana Apalai	44	31,8	"
Kayapó	52	19,2	"
Arara	42	26,2	"
Yanomami	42	45,2	"
Porturujara	14	21,4	"
Katuena	20	25,0	"
Peruvian	104	29,8	"
Pima	n/r	40,0	Ariëns y cols., 2002

n/r: no reportado.

## ANEXO 5

Mapa de Venezuela, división regional (Rodríguez-Larralde y cols., 2001).



Regiones geográficas en que fue dividida Venezuela: región central (RC), región centro-occidental (RCO), región nor-occidental (RNO), región oriental (RO) y región Los Andes (RLA).



## ANEXO 6

Frecuencias genéticas de los sistemas ABO y Rh en tres poblaciones venezolanas (Vívenes y cols., 2008b)

	<b>Monagas</b>	<b>Sucre</b>	<b>Nueva Esparta</b>
<b>ABO</b>			
A	0.130	0.229	0.338
B	0.070	0.061	0.036
O	0.800	0.710	0.626
N	37	59	43
<b>RH</b>			
CDE	0.087	0.057	0.018
CDe	0.245	0.318	0.505
cDE	0.173	0.256	0.081
cDe	0.176	0.027	0.167
CdE	0.000	0.000	0.000
Cde	0.155	0.000	0.000
cdE	0.052	0.000	0.000
cde	0.114	0.342	0.229
N	37	32	43
<b>Admixture (%)</b>			
Amerindian	23	6	5
European	38	85	80
African	39	9	15

## ANEXO 7

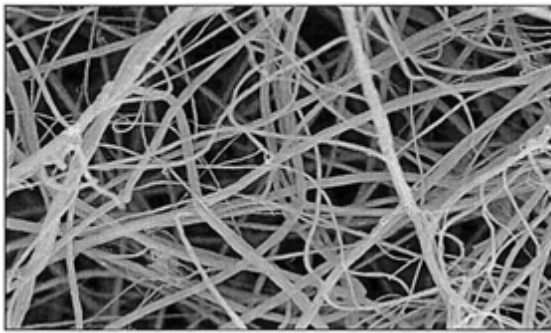
Ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg a partir de las frecuencias genotípicas, realizando una prueba de Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) con el programa de MAXLIK.

Genotipos	Valores observados relativos	Valores esperados relativos (Hardy-Weinberg)	Valores observados absolutos	Valores esperados absolutos (Hardy-Weinberg)	Chi-cuadrado ( $\chi^2$ )
Val/Val	0,69643	$p^2$ 0,67475	39	37,79	0,03902
Val/Leu	0,25000	$2pq$ 0,29337	14	16,43	0,35900
Leu/Leu	0,05357	$q^2$ 0,03189	3	1,79	0,82572
Total	1,00000	1,00000	56	56,00	1,22374

## ANEXO 8

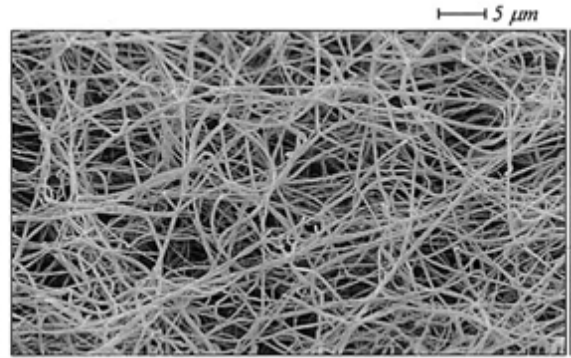
Microfotografía electrónica, mostrando el efecto del polimorfismo Val34Leu en la estructura de la fibrina entrecruzada. A) Homocigoto Valina 34; B) Homocigoto Leucina 34 (tomado de Ariéns y cols., 2002).

A



Val/Val

B



Leu/Leu

## **Hoja de Metadatos**

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

<b>Título</b>	POLIMORFISMO FXIII VAL34LEU EN DONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL DR. LUIS RAZETTI, DE LA CIUDAD DE TUCUPITA, ESTADO DELTA AMACURO
<b>Subtítulo</b>	

## Autor(es)

<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Código CVLAC / e-mail</b>	
Marquett Gómez, Darcys Carolina	<b>CVLAC</b>	V.-16.479.327
	<b>e-mail</b>	darcysm@hotmail.com
	<b>e-mail</b>	darcysm@gmail.com
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	

## Palabras o frases claves:

Polimorfismo, VAL34LEU, Factor XIII, Coagulación, Tucupita, Bioanálisis.

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

## Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

## RESUMEN

En algunos estudios se ha asociado el polimorfismo Val34Leu del Factor XIII como efecto protector contra patologías trombóticas, razón por la cual es importante conocer sus frecuencias en individuos aparentemente sanos pertenecientes al estado Delta Amacuro, en donde no existen reportes al respecto. El grupo estudiado estuvo conformado por 56 individuos donantes de sangre, aparentemente sanos, nacidos en el estado Delta Amacuro, descendientes de padres y abuelos autóctonos de esta entidad. Se extrajo el ADN de las muestras sanguíneas, empleando un método salino y se llevó a cabo el análisis por PCR-RFPL. Se estudió un total de 112 cromosomas y se obtuvieron las frecuencias alélicas por conteo directo. Se analizó el ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg, con las frecuencias genotípicas, elaborando una prueba de  $\chi^2$  con el programa MAXLIK. La frecuencia alélica obtenida para valina<sup>34</sup> fue de 82,00%, mientras que para leucina<sup>34</sup> fue de 18,00%. Las frecuencias genotípicas fueron Val/Val 69,64%; Val/Leu 25,00% y Leu/Leu 5,36%. La información recopilada en las encuestas, señalan que el 82,14% de los individuos nunca ha adquirido el hábito de fumar, mientras que en el 17,86% se encuentran los fumadores y exfumadores. El 78,52% reportaron ser consumidores de bebidas alcohólicas; un 48,21% (n=27) de forma esporádica y 30,36% (n=17) semanalmente. Más de la mitad de los individuos (51,79%) afirmaron practicar una actividad física con frecuencia, por lo que el sedentarismo no es predominante en esta población. Con respecto a los antecedentes familiares del riesgo de sufrir de enfermedades cardiovasculares, el 71,42% (n=40) reportaron la ausencia de estos, mientras que el resto 28,58% (n=16) declararon la presencia de alguna de estas patologías en su entorno familiar. Los resultados obtenidos en este estudio son un gran aporte al conocimiento de la estructura genética de esta población, y serán de utilidad en investigaciones futuras sobre patologías, que probablemente estén asociadas con este polimorfismo, en el estado Delta Amacuro.

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

## Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Vivenes Núñez, Merlyn Carolina	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	V.-8.641.870
	e-mail	
	e-mail	
Campos, Miguel	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
Salazar, Raquel	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

## Fecha de discusión y aprobación

**Año**      **Mes**      **Día**

2010	02	05
------	----	----

Lenguaje: SPA

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis- DARCYS MARQUETT	APPLICATION/Word

Alcance:

Espacial: INTERNACIONAL (Opcional)

Temporal: TEMPORAL (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

Nivel Asociado con el Trabajo LICENCIADO

Área de Estudio:

BIOANÁLISIS

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente



# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

## Derechos:

De acuerdo al artículo 44 del reglamento de trabajo de grado: “Los trabajos de grado son exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podrán ser utilizados a otros fines, con el consentimiento del Consejo de Núcleo quien lo participará al Consejo Universitario”.



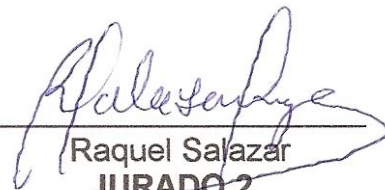
Darcys C. Marquett G.  
**AUTOR**



Merlyn C. Vivenes N.  
**TUTOR**



Miguel Campos  
**JURADO 1**



Raquel Salazar  
**JURADO 2**



**POR LA COMISIÓN DE TESIS:**

