



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

VARIANTES MOLECULARES EN REGIONES PROMOTORAS Y CODIFICANTES
DEL GEN F13A1, EN PACIENTES CON TROMBOSIS ARTERIAL NACIDOS EN
LOS ESTADOS ANZOÁTEGUI Y SUCRE
(Modalidad: Tesis de Grado)

MERIBETH DEL VALLE PEÑA LANDAETA

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

CUMANÁ, 2013

VARIANTES MOLECULARES EN REGIONES PROMOTORAS Y CODIFICANTES
DEL GEN F13A, EN PACIENTES CON TROMBOSIS ARTERIAL NACIDOS EN
LOS ESTADOS ANZOÁTEGUI Y SUCRE

APROBADO POR:

Dra. Merlyn Vívenes
Asesora

Dra. Sonia Nusetti
Jurado principal

Dra. Chelita Hernández
Jurado principal

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
RESUMEN	vi
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	8
Muestra poblacional	8
Toma de muestra	8
Extracción de ADN	9
Amplificación del ADN	10
Polimorfismo F13A01	10
Polimorfismo Val34Leu	11
Digestión con enzima de restricción	12
Fibrinógeno.....	12
Determinaciones bioquímicas.....	13
Determinación sérica de la glucosa	14
Determinación de los niveles séricos de triglicéridos	14
Determinación de los niveles séricos de colesterol total	14
Determinación de los niveles séricos de la lipoproteína de alta densidad	15
Determinación de los niveles séricos de la lipoproteína de baja densidad	15
Determinación de los niveles séricos de la lipoproteína de muy baja densidad	15
Análisis estadístico	16
RESULTADOS.....	17
DISCUSIÓN	33
CONCLUSIONES	49
RECOMENDACIONES	51
BIBLIOGRAFÍA	52
ANEXOS	64
HOJAS DE METADATOS	86

DEDICATORIA

A Luis Ramón Candallo Landaeta

Por transmitirme los más hermosos valores como el respeto, la humildad, la solidaridad, la honestidad, la amistad y enseñarme que el amor más grande es el de la familia.

Por ser mi cómplice y uno de los pilares fundamentales que me ha proporcionado la fortaleza y me ha impulsado a lo largo de la carrera por alcanzar esta meta.

Porque eres mi inspiración, ese héroe que ha batallado a lo largo de su vida para pintar en mi rostro una sonrisa.

A ti querido primo por todo el amor que siempre me has brindado.

“Claro que creo en los sueños. Soñar es esencial, es, puede ser, la única cosa real que exista”

Jorge Luis Borges

AGRADECIMIENTOS

A

Jehová Dios por haberme brindado la fortaleza para que fuera posible alcanzar esta meta.

La profesora Merlyn Vívenes por su tutoría, el tiempo y la dedicación a este trabajo, además por su amistad, apoyo y consejos.

La Universidad de Oriente por la formación académica, a la Comisión de Investigación y a la Dirección de Desarrollo Estudiantil por el aporte económico otorgado para el financiamiento parcial de este trabajo.

El personal de las consultas de cardiología de los hospitales “Luis Razetti” de Barcelona, estado Anzoátegui y “Antonio Patricio de Alcalá” ubicado en la ciudad de Cumaná, estado Sucre, por su cooperación durante la toma de muestras, así como a las personas que participaron de manera voluntaria.

Al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), especialmente a la Dra. Dinorah Castro de Guerra por permitirme el ingreso y hacer uso de los equipos y materiales del laboratorio de Genética Humana para desarrollar las pruebas moleculares necesarias y por su gran aporte en esta investigación.

El personal del Laboratorio de Genética Humana del IVIC, de manera muy especial al Dr. Álvaro Rodríguez por sus sabias sugerencias, de igual manera a la Dra. Irene Paradisi y las licenciadas Yanireth, Maitte, Mary Helen, Mireya, Neida y Vicky por los conocimientos compartidos así como también a Cristina, Gilberto, Liana y Yasser. Al Sr. Luis José por su colaboración con las fotos de los geles, su cariño y su amistad.

Mis amigos Arneida Tarache, Edward Zerpa, Hilcias Rodríguez, Joleidis Mago, Karina Aguirre, Lucemilys Salazar, María Rivero, María Vargas, Yusmeri Suniaga y Jualmael Rodríguez, por brindarme su apoyo, por todo el tiempo compartido, las alegrías, su comprensión y paciencia. Los quiero.

Mi familia, por su presencia constante, su apoyo incondicional, por cubrirme de bendiciones con sus oraciones diarias, por todo el amor profesado, muchas gracias a mi madre y a mi padre, a mis hermanos Bettina y Georger, mis abuelas Josefa y Tomasa, mis tías Zoraida, Meris e Irma, mis tíos Alfredo y Pedro, mis primos Luis Ramón, Luis Alberto, Diego Jhoann, Ellry, Luzmeri, José Rafael, Margien y a mi padrino Pedro Figueroa. Mis primas Sairvi, Yurismy y Yairimy por su apoyo, solidaridad y cariño, de igual manera a mi prima Yarisai y su esposo Néstor por abrirme las puertas de su hogar y hacerme sentir en casa, se les quiere.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de acuerdo al sexo, de los individuos con trombosis arterial y los grupos controles provenientes de los estados Anzoátegui y Sucre.	17
Tabla 2. Frecuencias alélicas del polimorfismo F13A01 del FXIII de la coagulación sanguínea, en individuos con y sin trombosis arterial pertenecientes al estado Anzoátegui.	18
Tabla 3. Frecuencias alélicas del polimorfismo F13A01 del FXIII de la coagulación sanguínea, en individuos con y sin trombosis arterial pertenecientes al estado Sucre.	19
Tabla 4. Frecuencias genotípicas del STR F13A01 en pacientes con trombosis arterial y en individuos controles provenientes del estado Anzoátegui.	20
Tabla 5. Frecuencias genotípicas del polimorfismo F13A01 en pacientes con trombosis arterial y en un grupo control provenientes del estado Sucre.	21
Tabla 6. Frecuencias alélicas del polimorfismo Val34Leu del FXIII de la coagulación sanguínea, en pacientes con trombosis arterial y en un grupo control pertenecientes al estado Anzoátegui.	23
Tabla 7. Frecuencias alélicas del polimorfismo Val34Leu del FXIII de la coagulación sanguínea, en pacientes con trombosis arterial y en un grupo control pertenecientes al estado Sucre.	23
Tabla 8. Frecuencias genotípicas del polimorfismo Val34Leu del FXIII en individuos con trombosis arterial y en un grupo control pertenecientes al estado Anzoátegui.	24
Tabla 9. Frecuencias genotípicas del polimorfismo Val34Leu del FXIII en individuos con trombosis arterial y en un grupo control pertenecientes al estado Sucre.	24
Tabla 10. Parámetros bioquímicos, hematológicos y antropométricos en individuos con patología trombótica de los estados Anzoátegui y Sucre, según el sexo.	25
Tabla 11. Parámetros bioquímicos, hematológicos y antropométricos en individuos aparentemente sanos de los estados Anzoátegui y Sucre, clasificados según el sexo.	26
Tabla 12. Parámetros bioquímicos y fibrinógeno en individuos con patología trombótica y controles de los estados Anzoátegui y Sucre, clasificados según los genotipos del polimorfismo Val34Leu encontrado.	28
Tabla 13. Factores de riesgo cardiovascular en individuos con enfermedad tromboembólica arterial pertenecientes al estado Sucre que formaron parte de la investigación.	29

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Gel de poliacrilamida, mostrando el polimorfismo F13A01, tomando como patrón la escalera alélica provista en con el kit (Promega, 2001). 32
- Figura 2. Gel de poliacrilamida al 10,00% el cual muestra las bandas para el polimorfismo Val34Leu del FXIII de la coagulación sanguínea. Pozo 1: muestra sin digerir, pozos 2, 3, 5, 7 y 9: homocigoto Val34; Pozo 4: Val34Leu; Pozo 8: homocigoto Leu34; Pozo 6: patrón (ADN del plásmido pBR 322 digerido con la enzima de restricción Msp..... 32

RESUMEN

El objetivo general del estudio consistió en analizar las variantes genéticas F13A01 y Val34Leu, ubicadas en la región promotora y codificante del gen que expresa la subunidad A del factor XIII de la coagulación sanguínea, en pacientes con trombosis arterial y en un grupo control, nacidos en los estados Sucre y Anzoátegui. Para tal fin, se tomaron muestras de sangre de 85 pacientes, de ambos sexos (42 del estado Anzoátegui y 43 del estado Sucre), con edades comprendidas entre 32 y 86 años, que acudieron a la consulta de cardiología de los Hospitales “Luis Razetti” de Barcelona, estado Anzoátegui y “Antonio Patricio De Alcalá” de Cumaná, estado Sucre, y de un grupo control con características semejantes. Se evaluaron las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos F13A01 y Val34Leu del FXIII de la coagulación sanguínea. Además, a cada individuo se le determinó el perfil lipídico, glicemia y fibrinógeno (Fg). Las frecuencias alélicas y genotípicas se determinaron por conteo directo. Se aplicó la prueba de relación de verosimilitud G^2 para determinar el equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W). Se compararon los parámetros bioquímicos y los niveles de Fg de los individuos evaluados, según los genotipos de Val34Leu, aplicando una prueba de *t*-Students. Los resultados obtenidos señalan para el polimorfismo F13A01, que en los casos del estado Anzoátegui, prevaleció el alelo 7 (25,00%) y en los controles el 3.2 (22,45%); mientras que, en los casos del estado Sucre predominaron los alelos 4, 6 y 7 (18,75%, c/u), siendo este último, también el más frecuente en los controles de ese estado. Se encontraron diecisiete genotipos del polimorfismo F13A01 en los casos de Anzoátegui, siendo el más frecuentes el 5/6 (14,29%); sin embargo, en el estado Sucre se observaron veintiuna combinaciones diferentes, mostrando mayor proporción la 7/8 (35,00%). Con respecto al polimorfismo Val34Leu, en el estado Anzoátegui, el alelo Leucina34 se observó en mayor cantidad de casos (17,86%) que en controles (12,24%). Mientras que en Sucre, fue menos frecuente en casos (12,79%) en comparación con los controles (18,27%). El genotipo homocigoto Leu/Leu, se encontró más frecuentes en los casos (2,38%) que en los controles (2,04%) anzoatiguenses, no obstante en el estado Sucre estuvo ausente en los casos y elevado en los controles (7,70%). El grupo de pacientes femeninas Val/Leu presentaron mayores valores de triglicéridos ($193,50 \pm 105,97$ mg/dl), CT ($202,80 \pm 50,75$ mg/dl) y LDL-C ($147,20 \pm 60,24$ mg/dl). Aunque estas pacientes portaban un alelo Leucina34, considerado en varios estudios como alelo de protección contra patologías arteriales, la presencia de otros factores de riesgo, tales como las dislipidemias, pudieron haber tenido una influencia preponderante en el desencadenamiento del evento trombótico. El tamaño reducido de la muestra, aunado a las elevadas heterocigosis en F13A01 dificulta el análisis en investigaciones de ésta índole.

INTRODUCCIÓN

La hemostasia es un conjunto de mecanismos fisiológicos que permite que la sangre circule de forma fluida por el interior de los vasos sanguíneos. En ésta participan, la pared vascular, las plaquetas, los factores de la coagulación y de la fibrinólisis, además de varias proteínas que actúan, de forma equilibrada, como inhibidoras y/o reguladoras. Al ocurrir alguna alteración en el proceso de activación y/o inactivación en cualquiera de los sistemas involucrados, pueden desencadenarse procesos hemorrágicos o trombóticos (Dahlbäck, 2000; Mateo y cols., 2001; Spronk y cols., 2003).

En el caso particular de la coagulación sanguínea, se han descrito dos modelos para tratar de explicar, de manera didáctica, dicho proceso. Uno de estos es el modelo de reacciones en cascada, propuesto en la década de los sesenta, en el cual se detalla el desarrollo de dos vías de activación, la intrínseca y la extrínseca, que convergen en una vía común. El otro, descrito recientemente, es el modelo celular que le adjudica mayor participación a las superficies celulares (Pérez Requejo y Pérez García, 1995; Páramo y cols., 2009).

El modelo de la cascada de la coagulación fue sugerido por Macfarlane (1964), quien propuso que la vía intrínseca se inicia cuando una superficie extraña se pone en contacto con la pared vascular, formándose un complejo entre los factores XII (FXII), XI (FXI) y los kininógenos de alto peso molecular (K-APM). Este complejo ocasiona la activación del FXII (FXIIa), el cual actúa sobre el FXI y lo activa (FXIa), además convierte a la precalicreína en calicreína. A su vez, el FXIa en presencia de calcio (Ca^{2+}), transforma al factor IX (FIX) en factor IX activado (FIXa), este último junto con el factor VIII activado (FVIIIa), unidos por el Ca^{2+} y los fosfolípidos, forman un complejo macromolecular capaz de transformar al factor X (FX) en factor X activado (FXa) (Davie y Ratnoff, 1964; Páramo y cols., 2009) (Anexo 1).

Mientras que, la vía extrínseca se inicia cuando ocurre una lesión vascular y se libera el factor tisular (FT), que unido al Ca^{2+} , actúa sobre el factor VII (FVII), el cual una vez activado (FVIIa), transforma al FIX y al FX en serinoproteasas activas (FIXa y FXa, respectivamente). El objetivo final de ambas vías es la activación del FX, representando el punto de confluencia para que se desarrolle la vía común, donde se forma un complejo macromolecular denominado complejo protrombinasa, constituido por iones Ca^{2+} , fosfolípidos de la membrana plaquetaria, factor V activado (FVa) y FXa, que actúa sobre la protrombina convirtiéndola en trombina (Pérez Requejo y Pérez García, 1995; McKenzie, 2000).

Por otra parte, el modelo celular, considera que la coagulación de la sangre se desarrolla en tres etapas, las cuales se encuentran relacionadas entre sí, estableciéndose una fase primaria de iniciación, que ocurre a nivel de las células productoras de factor tisular (FT) y que conlleva a la generación de los factores Xa, IXa y pequeñas cantidades de trombina, que son suficientes para iniciar el proceso. Una segunda fase de amplificación, que se lleva a cabo en la superficie de las plaquetas que son activadas por la trombina generada y que acumulan factores y cofactores en sus superficies, permitiendo que se desarrollen diversas reacciones enzimáticas. Por último, la fase de propagación, donde las proteasas se combinan con los factores en la superficie de las plaquetas, promoviendo la generación de grandes cantidades de trombina que favorecen la formación de fibrina y su posterior polimerización, para dar lugar a un coágulo estable (Páramo y cols., 2009) (Anexos 2-5).

En ambos modelos, la trombina desempeña una función clave, ésta es una enzima serino proteasa, que normalmente no circula en la sangre y cuya principal función en la hemostasia, es actuar sobre el fibrinógeno, rompiendo los enlaces arginina-glicina, para liberar los fibrinopéptidos A y B, por un lado, y los monómeros de fibrina, por el otro, los cuales al polimerizar, forman la malla de

fibrina. La trombina, además, ejerce su acción sobre el factor XIII (FXIII), conocido también como factor estabilizador de la fibrina, y al activarlo (FXIIIa) lo transforma en una transglutaminasa que forma enlaces covalentes γ -glutamil- ϵ -lisina entre los monómeros de fibrina adyacentes, protegiendo al coágulo de las enzimas fibrinolíticas, hasta que se detenga la hemorragia y se requiera su remoción del torrente sanguíneo (Roldán y cols., 2003) (Anexo 6).

El FXIII de la coagulación sanguínea puede ser activado por otras sustancias como la tripsina, la reptilasa, la papaína y una enzima contaminante del ancrod. Se encuentra en el organismo de dos maneras, una plasmática y otra celular (en megacariocitos, plaquetas y monocitos). En el plasma, se presenta en forma de proenzima, circulando como un tetrámero (A_2B_2) compuesto de dos subunidades A (FXIIIa) con funciones catalíticas y dos subunidades B (FXIIIb) que actúan como transportadoras y de protección. Las subunidades A son sintetizadas por los megacariocitos y los precursores monocíticos en la médula ósea, así como en la placenta; mientras que las subunidades B son producidas por los hepatocitos (Muszbek y cols., 1999; Ariëns y cols., 2002; Shemirani y cols., 2006) (Anexo 7).

El gen que codifica para la subunidad FXIIIa en los humanos es designado como *F13A1* y se encuentra en el brazo corto del cromosoma 6, en la banda p24-25; mientras que el gen del FXIIIb se conoce como *F13B* y se ubica en el brazo largo del cromosoma 1, en la banda q32-32.1. En ambos genes pueden presentarse mutaciones o cambios en la secuencia de bases nitrogenadas que alcanzan frecuencias superiores al 1,00%, conocidos como polimorfismos del ADN, que pueden ser utilizados como valiosos marcadores genéticos poblacionales. Estas variantes pueden clasificarse como públicas, si se encuentran en algunas poblaciones con frecuencias similares, y privadas, cuando se presentan sólo en una localidad específica o con una frecuencia

particularmente elevada o disminuida (Ichinose y Davie, 1988; Bottenus y cols., 1990; Monroe y cols., 1994; Müller y Renné, 2008) (Anexo 8).

Se han descrito en el gen *F13A1*, dos polimorfismos de alta variabilidad poblacional. Estos son el F13A01 y Val34Leu, los cuales son de tipo STR (del inglés *short tandem repeat*) y SNP (del inglés *single nucleotide polymorphism*), respectivamente. Los STRs, también llamados microsatélites, corresponden a una variación que obedece al distinto número de veces que se repite una secuencia de menos de seis pares de bases nitrogenadas en un locus específico. La información proporcionada por éstos es importante en el área de la genética, desde la perspectiva de la formación y caracterización molecular de la población, tomando en cuenta las posibles implicaciones microevolutivas y como base de datos referencial para estudios de asociación entre patologías humanas y marcadores genéticos (Polymeropoulos y cols., 1991; Novoa y cols., 2001).

El polimorfismo F13A01 es un tetranucleótido (5'-AAAG-3'), que se encuentra ubicado en un segmento no codificante, específicamente en la región promotora, en el locus p24.3-p25.1, a una distancia de 730 pares de bases del sitio de inicio de la transcripción del gen. Ha sido un polimorfismo muy estudiado en varias localidades, donde se ha observado la presencia de los alelos 3.2 al 17. Se han realizado estudios sobre la regulación celular tipo específica de la expresión, a nivel de la región promotora del gen de la subunidad A del FXIII de la coagulación sanguínea, en humanos, observándose secuencias para la unión de factores mieloides GATA-1 y Ets-1, los cuales son responsables de potenciar la expresión de dicho gen. El número de repeticiones alarga la distancia entre el sitio de unión y el inicio del gen, por lo que pudiera influir en el proceso transcripcional alterando los niveles del FXIII de la coagulación. Considerando este hallazgo, otros autores han tratado de buscar la asociación entre la presencia de los alelos más frecuentes del F13A01, la

expresión de los niveles de la proteína y el padecimiento de patologías trombóticas, sin embargo aún no se han obtenido resultados contundentes (Polymeropoulos y cols., 1991; Kida y cols., 1999; Carrera-Torres y Athanasiadis, 2010; Vivenes y cols., 2012).

Este polimorfismo también ha sido determinado en grupos de personas aparentemente sanas, con el objetivo de caracterizar a las poblaciones genéticamente, observándose en el continente europeo que el alelo 7 presenta las más altas frecuencias y el 4 las más bajas. En Asia se ha encontrado el menor número de variantes reportado hasta el momento, siendo los alelos 3.2 y 6 los más frecuentes. No obstante, las poblaciones africanas se caracterizan por presentar un mayor número de alelos, de los cuales el 5, 8 y 13 son los más frecuentes. En Venezuela se ha analizado este STR en la ciudad de Caracas y en los estados Aragua, Carabobo, Falcón, Mérida y Zulia, sin embargo, aún no existen reportes sobre estudios de asociación del mismo en pacientes con patologías trombóticas (Burgos y cols., 2001; Pineda y cols., 2002; Borjas-Fajardo y cols., 2003; Chiurillo y cols., 2003; Martínez, 2003; Acosta y cols., 2004; Simmons y cols., 2007).

Con respecto a los polimorfismos de tipo SNP en el gen del FXIIIa, se han identificado cinco variaciones comunes, Val34Leu, Tyr204Phe, Leu564Pro, Val650Ile y Glu651Gln, situadas en regiones exónicas. La más relevante, por sus implicaciones clínicas, es la variante Val34Leu, caracterizada por involucrar un solo nucleótido, que condiciona una sustitución del aminoácido valina por leucina, en la posición 34. Este polimorfismo ubicado en el exón 2, se encuentra a tres aminoácidos del sitio de activación por la trombina, y aunque no genera cambios en la concentración plasmática del FXIII, ejerce una influencia sobre la actividad funcional de la proteína (Ariëns y cols., 2000; Mann y cols., 2003; Monroe y Hoffman, 2006; Salazar-Sánchez y cols., 2006; Cushman y cols., 2007; Ajjan y Ariëns, 2009) (Anexo 9).

Varios estudios han señalado una asociación entre Val34Leu y la trombosis arterial, reportando que los individuos portadores del alelo Leucina34, tenían un menor riesgo de padecer de infarto de miocardio (IM) y de eventos cerebrovasculares isquémicos. Se ha propuesto que este efecto podría ser debido a complejas interacciones gen-gen o gen-medio ambiente. Otros estudios sugieren que el polimorfismo Val34Leu juega un papel importante en los cambios conformacionales de la malla de fibrina, modulado a su vez, por las elevadas concentraciones de fibrinógeno. Bajo estas condiciones, los individuos homocigotos para el alelo Leucina34, forman coágulos de fibras más laxas, gruesas y con aumento de la permeabilidad; mientras que, menores niveles de fibrinógeno, promueven fibras más delgadas, compactas y con poca permeabilidad. Esto permite comprender las observaciones de estudios clínicos donde proponen que la presencia del alelo Leucina34 atenúa los efectos adversos sobre el riesgo de enfermedades tromboticas arteriales (Elbaz y cols., 2000; Franco y cols., 2000, Ariëns y cols., 2002; Marín y cols., 2002; Lim y cols., 2003; Bronic y cols., 2009) (Anexo10).

La trombosis arterial se ha definido como una patología multifactorial, que implica la interacción de factores ambientales y genéticos, ocasionada por la rotura o erosión en una placa aterosclerótica rica en lípidos como consecuencia de un proceso inflamatorio crónico de la pared vascular. La obstrucción de la placa aterosclerótica a causa del trombo, acelera la aparición de cuadros clínicos, como IM, accidente cerebrovascular isquémico (ACVI), o la oclusión arterial periférica, entre otros. Las patologías tromboticas arteriales, representan una de las principales causas de muerte en los países industrializados y en aquellos en vía de desarrollo, incluyendo Venezuela. Se ha reportado a escala mundial, que aproximadamente 12 millones de personas fallecen por esta causa, siendo el IM uno de los eventos que se presenta con mayor frecuencia. Este es producido por un bloqueo súbito de la sangre al corazón que ocasiona la falta de oxígeno y nutrientes, y produce lesiones permanentes en ese órgano

vital (Ross, 1999; Páramo y cols., 2003; Organización Mundial de la Salud, 2005; Pereira, 2007) (Anexos 11-13).

En Venezuela se han determinado las frecuencias alélicas y genotípicas para Val34Leu en individuos aparentemente sanos, de varias localidades de las regiones capital, nororiental y centro occidental, observándose frecuencias para el alelo Leucina34 de 12,00-31,00%, no obstante pocos estudios han tratado de buscar la asociación de este polimorfismo y el padecimiento de eventos trombóticos (Vívenes, 2006; Izaguirre y cols., 2008; Vívenes y cols., 2008; Marquett, 2010).

En el presente trabajo de investigación, se estudiaron los polimorfismos F13A01 (AAAG) y Val34Leu ubicados en el gen que codifica para la subunidad A del Factor XIII de la coagulación sanguínea, en pacientes con trombosis arterial nacidos en los estados Anzoátegui y Sucre, y en individuos controles con características similares, los cuales fueron seleccionados al azar, con la finalidad de analizar las frecuencias alélicas y genotípicas de ambos polimorfismos. Además, se determinaron los parámetros bioquímicos como glicemia, triglicéridos, colesterol total, LDL-c, HDL-c y VLDL-c y la concentración de fibrinógeno; con el propósito de establecer si existe asociación entre las variantes F13A01 y Val34Leu, y estas determinaciones, que puedan conllevar al padecimiento de la enfermedad trombótica arterial en este grupo poblacional.

METODOLOGÍA

Muestra poblacional

La muestra poblacional estudiada estuvo constituida por 85 pacientes de ambos géneros (42 del estado Anzoátegui y 43 del estado Sucre), con edades comprendidas entre 32 y 86 años, que acudieron a la consulta de cardiología del Hospital “Luis Razetti” de Barcelona, estado Anzoátegui y del servicio autónomo del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, ubicado en la ciudad de Cumaná, estado Sucre, además de un grupo control con características semejantes. El muestreo se realizó en los meses de julio-octubre de 2011. El grupo poblacional se seleccionó tomando en cuenta aquellos individuos nacidos en los estados Anzoátegui y Sucre, no emparentados, con padres y abuelos autóctonos de dichos estados. Se excluyó de este estudio a las mujeres embarazadas. Para formar parte de la investigación, estos individuos firmaron, de manera voluntaria, un consentimiento válido (Anexos 14 y 15), en el cual se siguen las normas de bioética para la investigación en humanos, propuesta en la declaración de Helsinki, donde se debe informar a los participantes todo lo referente a la toma de muestra, análisis de las mismas, objetivo del estudio, beneficios, confidencia y discreción de la investigación (CIOMS, 1993; Penchaszadeh, 2002) (Anexos 14-18).

Toma de muestra

A los individuos seleccionados se les extrajeron 10,00 ml de sangre venosa de la fosa antecubital, con una jeringa estéril desechable y fueron distribuidos de la siguiente manera: se colocaron 5,00 ml de sangre en un tubo que contenía 100,00 µl de la sal tetrasódica del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) al 15,00% como anticoagulante (McKenzie, 2000). Las muestras fueron almacenadas a una temperatura de 4°C en el refrigerador hasta ser transportadas al Laboratorio de Genética Humana del Instituto Venezolano de

Investigaciones Científicas (IVIC), donde se realizaron las pruebas moleculares. En un tubo, previamente rotulado con el número de registro, sin anticoagulante, se colocaron 3,00 ml de sangre para la obtención del suero, con el cual se realizaron los parámetros bioquímicos (perfil lipídico y glicemia). Se colocaron 2,00 ml de sangre venosa en un tubo de ensayo con citrato de sodio al 3,80% como anticoagulante, luego se centrifugaron a 1 800 g durante 15 minutos, de esta manera se obtuvo el plasma que se empleó en la cuantificación del fibrinógeno (Fg).

Extracción de ADN

La obtención del ADN se realizó utilizando el método de extracción salino descrito por Lahiri y Nurberger (1991), modificado en el Laboratorio de Genética Humana del IVIC. A los 5,00 ml de sangre completa se les agregaron 5,00 ml de reactivo TKM1, el cual se preparó utilizando 10,00 mmol l⁻¹ a pH 7,60 de trisma/ácido clorhídrico (Tris/HCl); 10,00 mmol l⁻¹ de cloruro de potasio (KCl); 10,00 mmol l⁻¹ de cloruro de magnesio (MgCl₂) y 2,00 mmol l⁻¹ de sal disódica de EDTA, luego se les añadieron 150,00 µl de Nonidet P-40, se agitó fuertemente, se centrifugó a 800 g por un tiempo de 15 minutos y se descartó el sobrenadante.

Se emplearon 5,00 ml de TKM1 para lavar el precipitado, luego fue resuspendido en 800,00 µl de reactivo de TKM2, el cual se preparó de la siguiente manera: Tris/HCl, 10,00 mmol l⁻¹ a pH 7,60; KCl, 10,00 mmol l⁻¹; MgCl₂, 10,00 mmol l⁻¹; sal disódica de EDTA, 2,00 mmol l⁻¹; hidróxido de sodio (NaOH), 0,40 mmol l⁻¹ y se agitó fuertemente. El precipitado fue transferido a un vial Eppendorf que contenía 55,00 µl de dodecilsulfato sódico (SDS) al 10,00%. Se incubó a 65°C durante 10 minutos en baño de María y se dejó a temperatura ambiente para que se enfriara. Posteriormente, se agregaron 300,00 µl de cloruro de sodio (NaCl) 3,50 mol l⁻¹ a temperatura ambiente y se agitó fuertemente para precipitar las proteínas. Se centrifugó a 7 000 g por 5 minutos

a temperatura ambiente, el sobrenadante fue distribuido en dos tubos, cada uno contenía 1,00 ml de etanol al 70,00%, los cuales fueron mezclados por inversión hasta ver aparecer la malla de ADN, ésta se dejó a temperatura ambiente hasta el momento de su uso.

Para utilizar la malla de ADN aislada, se procedió a centrifugar la muestra en microcentrífuga a 7 000 g durante 5 minutos a temperatura ambiente, luego se descartó el etanol y se llevaron a la estufa hasta secarse completamente. Se resuspendió en 200,00 µl de buffer de lectura (Tris/HCl, 10,00 mmol l⁻¹ con sal disódica de EDTA, 1,00 mmol l⁻¹ a pH 8,00). Finalmente, se colocó en baño de María a 65°C por 10 minutos, para disolver el ADN.

Amplificación del ADN

Polimorfismo F13A01

Para el análisis de polimorfismo F13A01 se utilizó el sistema Multiplex de la casa comercial Promega. La amplificación de éste se llevó a cabo siguiendo los protocolos descritos por el fabricante (Promega, 2001). Se agregó 1,25 µl de la solución tampón que trae el estuche comercial; 1,25 µl de los oligómeros; 0,11 µl de Taq go pura; 9,39 µl de agua bidestilada estéril y 1,00 µl de ADN.

Se utilizó un termociclador marca MJ Research, modelo PT-100 y se sometieron las muestras a las siguientes condiciones de amplificación. Pasos: 1) 94°C por 2 minutos, 2) 94°C por 1 minutos, 3) 60 °C por 1 minuto, 4) 70 °C por 1:30 minutos, 5) se repitieron los pasos 2 al 4 por 10 ciclos, 6) 94 °C por 2 minutos, 7) 60 °C por 1 minuto, 8) 70 °C por 1:30 minutos , 9) se repitió el paso 6 por 20 ciclos, 10) 60 °C por 1 minuto, 11) 23 °C por 7:50 minutos, 12) fin.

Para analizar los productos de la amplificación, se empleó la técnica de electroforesis en geles desnaturizantes de poliacrilamida al 6,00%. El amortiguador usado fue Tris-Borato-EDTA (TBE) 5X a pH 8,30 (Tris 0,45 mol l⁻¹,

ácido bórico $0,45 \text{ mol l}^{-1}$; disuelto en una solución de EDTA $0,45 \text{ M}$, pH 8,0), solución de acrilamida-bisacrilamida 19:1 (40%), urea 7 mol l^{-1} , agua desionizada, TEMED ($20,00 \mu\text{l}$) y persulfato de amonio 15,00% ($265,00 \mu\text{l}$).

La electroforesis se llevó a cabo en una cámara de secuenciación de ácidos nucleicos marca OWL, modelo S4S, con amortiguador TBE 1X. Se realizó una precorrida a $1000,00 \text{ V}$ y 15mAmp , hasta que el gel alcanzó una temperatura entre $49\text{-}50 \text{ }^\circ\text{C}$, la cual fue monitoreada durante toda la corrida, empleando una fuente de poder Termo electrón Corporation EC 3000-90. Posteriormente, las muestras se colocaron en los pozos (previo lavado de los mismos, usando una jeringa Hamilton y amortiguador TBE 1X, para eliminar el exceso de urea), se dejó correr el gel por dos horas aproximadamente, se coloreó con nitrato de plata y se procedió a realizar la asignación de los alelos correspondientes, tomando como patrón la escalera alélica proporcionada en el estuche comercial (Promega, 2001)(Figura 1).

Polimorfismo Val34Leu

Para la amplificación del material genético, se aplicó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés *polymerase chain reaction*). Se empleó el método descrito por Saiki y cols. (1988), adaptándolo para un volumen de $15,00 \mu\text{l}$ y se analizó el polimorfismo Val34Leu. La mezcla de amplificación fue preparada empleando $0,90 \mu\text{l}$ de los oligómeros 1 y 2 a una concentración de 1 mmol l^{-1} , $6,90 \mu\text{l}$ de agua bidestilada estéril, $0,10 \mu\text{l}$ de Taq ADN polimerasa a una concentración de $5\text{U}/\mu\text{l}$, $2,00 \mu\text{l}$ de ADN ($100,00\text{-}300,00 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) y $4,20 \mu\text{l}$ de la mezcla de trabajo preparada previamente con los cuatro desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTPs), los iones de magnesio (Mg^{2+}) y la solución amortiguadora (Franco y cols., 2000).

Se empleó un termociclador marca MJ Research, modelo PT-100 t, para someter las muestras a las siguientes condiciones de amplificación: etapa inicial

a 94°C por 5 minutos, desnaturalización a 94°C por 5 minutos, apareamiento a 57°C por 1 minuto, extensión a 74°C por 5 minutos. Posteriormente, se indicaron 35 ciclos de repetición de los pasos 2 al 4 y se culminó con una etapa final a 23°C por 5 minutos (Saiki y cols., 1988; Franco y cols., 2000).

Para visualizar el producto de la amplificación, se empleó la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida al 8,00% con un amortiguador Tris-EDTA a pH 8,30, utilizando una cámara de electroforesis Sigma Chemical C.O., modelo 235, 280-2, ST Louis, Mo63178 USA, se realizó una precorrida con un tiempo de duración de 10 minutos, una vez finalizada, se aplicaron las muestras en cada uno de los pozos del gel, se hizo la corrida electroforética empleando un voltaje de 200 V y 35 mAmp por un tiempo aproximado de 2 horas. Al culminar, se procedió a colorear el gel con nitrato de plata, previamente fijado con una solución de etanol al 10,00% y ácido acético (CH₃COOH) al 0,50%, seguidamente, se colocó el nitrato de plata (AgNO₃) al 0,30% y por último, se reveló con una solución de NaOH al 1,50% y formaldehído al 0,40% (Da Woon y cols., 1998).

Digestión con enzima de restricción

Para el polimorfismo Val34Leu, el producto de la PCR, fue sometido a digestión enzimática, empleando la enzima de restricción *Msel*, la cual reconoce la secuencia 5'-T ↓ TAA-3' (3'-AAT ↓ T-5') y digiere el producto amplificado generando dos fragmentos cuando está presente el alelo Leu34. Para observar el producto de la digestión, se realizó electroforesis en gel de poliacrilamida al 8,00%, siguiendo el mismo protocolo utilizado para ver el producto de amplificación (Franco y cols., 2000) (Figura 2).

Fibrinógeno

Una vez que se obtuvo el plasma citratado se empleó el método de la pesada o gravimétrico, el cual mide la cantidad de Fg que existe en el plasma, pesándolo

después de su transformación a fibrina. Se realizó de la siguiente manera: en un tubo de ensayo se colocaron 500,00 µl de plasma con 500,00 µl de una solución de cloruro de calcio (CaCl₂) 0,025 M, se selló el tubo con papel parafilm y se mezcló por inversión, se retiró el parafilm y se introdujo de inmediato un aplicador de madera, se llevó a baño de maría incubando durante 10 minutos a una temperatura de 37°C. Transcurrido el tiempo de incubación, se recolectó el coágulo formado dándole vueltas al aplicador y haciendo presión sobre la pared del tubo para exprimir el líquido, luego se sumergió el aplicador con la fibrina en un tubo con agua destilada durante 5 minutos con el propósito de eliminar otros compuestos séricos que se hayan adherido al coágulo; posteriormente, se colocó sobre un cuadrado de papel de filtro, con la ayuda de una hoja de bisturí se despegó del aplicador de madera y se secó muy bien, se retiró la fibrina del papel, se transfirió a un tubo con acetona durante 10 minutos, para que se endureciera y deshidratara. Finalmente, se descartó la acetona cuidadosamente, para no perder el coágulo y se llevó el tubo que lo contenía hasta la estufa durante 24 horas. El cálculo se realizó empleando la siguiente fórmula:

$$Fg \text{ (mg/dl)} = \text{peso del coágulo (mg)} / \text{volumen del plasma (ml)} \times 100 \text{ (Ingram, 1952).}$$

Valores de referencia: 208,00-424,00 mg/dl

Determinaciones bioquímicas

Para la determinación de glicemia y el perfil lipídico se utilizó el equipo automatizado OLYMPUS AU640, el cual mide la concentración de glicemia, colesterol total, colesterol HDL (del inglés *high density lipoprotein*), colesterol LDL (del inglés *low density lipoprotein*), colesterol VLDL (del inglés *very low density lipoprotein*) y triglicéridos en el suero, empleando los reactivos de la casa comercial OLYMPUS (Trinder, 1974).

Determinación sérica de la glucosa

Este parámetro fue medido a través de una reacción donde la glucosa es oxidada por la acción catalítica de la enzima glucosa oxidasa generando ácido glucónico y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), este último es liberado y reacciona con un cromógeno (fenol/4-aminoantipirina) por la reacción de Trinder, para generar una quinona. La absorbancia, al ser transformada a 340/380 nanómetros (nm), es proporcional a la cantidad de glucosa presente en la muestra (Nelson, 1944; Olympus Diagnóstica, 2004a).

Valores de referencias: 60,00-110,00 mg/dl.

Determinación de los niveles séricos de triglicéridos

Para la cuantificación de los triglicéridos se utilizó el método del glicerol fosfato oxidasa (GPO), el cual se basa en la hidrólisis de los triglicéridos por la acción de la enzima lipasa, generando ácidos grasos libres y glicerol. En este proceso, el glicerol es fosforilado mediante una reacción catalizada por la glicerol quinasa (GK) para formar glicerol-3-fosfato (G3P) que, posteriormente, será oxidado por la enzima glicerol fosfato oxidasa, produciendo dihidroxiacetona fosfato más peróxido de hidrógeno (H_2O_2) que, en presencia de la enzima peroxidasa, provoca el acoplamiento del 4-clorofenol y la 4-aminoantipirina, dando lugar a un derivado quinonímico de color rojo. La determinación se realiza a una absorbancia máxima de 500nm (Trinder, 1974; Olympus Diagnóstica, 2004b).

Valores de referencia: <150mg/dl.

Determinación de los niveles séricos de colesterol total

El procedimiento empleado para el análisis del colesterol total fue el método colorimétrico colesterol esterasa y colesterol oxidasa, en el cual la enzima colesterol esterasa hidroliza los ésteres de colesterol, mediante una reacción que genera colesterol libre y ácidos grasos. El colesterol libre que se produce es oxidado por la colesterol oxidasa para formar peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y 4-colesterona. Luego, ocurre la oxidación del cromógeno con el H_2O_2 en una

reacción catalizada por la peroxidasa para generar el producto final que es un colorante rojo de quinoneimina, el cual absorbe a 540/600 nm. La intensidad de la coloración es directamente proporcional a la concentración de colesterol en el suero (Trinder, 1974; Olympus Diagnóstica, 2004c).

Valores de referencia: <200mg/dl.

Determinación de los niveles séricos de la lipoproteína de alta densidad

La determinación de los niveles de colesterol HDL (HDL-C) se realizó mediante el método de precipitación, donde el colesterol LDL (LDL-C) y colesterol VLDL (VLDL-C) se precipitan selectivamente del suero sanguíneo, a un pH de 5,70, por la adición del reactivo fosfotungstato amortiguado, quedando las HDL-C en el sobrenadante. La centrifugación del suero pretratado resulta en un sobrenadante aclarado que contiene HDL-C, el cual fue analizado por el método enzimático colesterol esterasa (Bauer, 1986, Olympus Diagnóstica, 2004d).

Valores de referencia: ≥ 35 mg/dl.

Determinación de los niveles séricos de la lipoproteína de baja densidad

Este parámetro fue analizado mediante el método indirecto según Friedewald, empleando la siguiente fórmula:

$LDL-C = \text{Colesterol total} - \text{Triglicéridos}/5 - \text{HDL-C}$ (Bernard, 1993).

Valores de referencia: < 150,00 mg/dl

Determinación de los niveles séricos de la lipoproteína de muy baja densidad

La determinación de los valores de VLDL-C, se realizó según el método indirecto de Rifking, donde la relación entre los triglicéridos y las VLDL-C es constante (1:5), lo cual ha permitido desarrollar la siguiente ecuación:

$VLDL-C = \text{Triglicéridos}/5$ (Bernard, 1993).

Valores de referencia: 10,00-36,00 mg/dl.

Análisis estadístico

Las frecuencias génicas y genotípicas de los pacientes con trombosis arterial e individuos controles, se determinaron por contaje directo. El ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W), considerando el microsatélite, se hizo a través de una prueba de relación de verosimilitud G2. Su significación se detectó mediante una prueba con repeticiones aleatorias tipo bootstrap, aplicando el programa SATFIES (Sokal y Rolf, 1981).

Para analizar si existían diferencias significativas entre los grupos estudiados, se realizó una prueba de Chi cuadrado (χ^2) con repeticiones aleatorias (bootstrap) usando el programa Jicuaboo, basándose en la metodología propuesta por Roff y Bentzen (1989). Esta prueba es recomendada en casos cuando las frecuencias en algunas de las celdas de los grupos que se comparan es reducido, como ocurre frecuentemente con las proporciones alélicas de los polimorfismos de tipo STRs (Roff y Bentzen 1989; Simmons y cols., 2007).

El análisis estadístico del polimorfismo Val34Leu, que permite definir el ajuste de la población con respecto al equilibrio de H-W, a partir de las frecuencias genotípicas, se realizó empleando una prueba de Chi cuadrado (χ^2) con el programa de MAXLIK. Se compararon los parámetros bioquímicos y los niveles de Fg de los individuos evaluados, según los genotipos de Val34Leu, aplicando una prueba de *t*-Students. En aquellos casos en que fue necesario, se aplicó un análisis no paramétrico Mann Whitney, considerando significativo $p < 0,05$ (Reed y Schull, 1968; Sokal y Rohlf, 1981).

RESULTADOS

El presente trabajo estuvo conformado por 199 individuos, representando un total de 396 cromosomas evaluados. En la tabla 1 se observa la distribución porcentual, de acuerdo al género, de la muestra poblacional analizada. En el estado Anzoátegui se examinaron 104 individuos, 42 con trombosis arterial (casos) y 62 aparentemente sanos (controles). Los casos presentaron mayor proporción del género masculino (61,90%, n=26) y menor del femenino (38,10%, n=16), con un rango de edad comprendido entre 33 y 84 años (promedio de edad de $62,73 \pm 10,84$ años). Mientras que en los controles predominó el género femenino (64,52%; n=40) sobre el masculino (35,48%; n=22); presentando un rango de edad entre 33 y 82 años (con un promedio de edad de $65,73 \pm 9,99$ años). Por otro lado, en el estado Sucre se estudiaron 95 individuos, de los cuales 43 eran casos y 52 controles. En el grupo de los casos el sexo masculino mostró mayor porcentaje (69,77%; n=30) con respecto al femenino (30,23%; n=13), con un rango de edad de 32 a 86 años (promedio de edad de $61,60 \pm 11,79$ años), no obstante, en el grupo control se observó una distribución más equitativa entre mujeres y hombres (44,23%; n=23 y 55,77%; n=29, respectivamente). En la muestra poblacional de los estados Anzoátegui y Sucre, se puede evidenciar que en el grupo de casos existe una mayor

Tabla 1. Clasificación de acuerdo al sexo, de los individuos con trombosis arterial y los grupos controles provenientes de los estados Anzoátegui y Sucre.

frecuencia en el género masculino con trombosis arterial.

Género	Anzoátegui				Sucre			
	Casos		Controles		Casos		Controles	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Femenino	16	38,10	40	64,52	13	30,23	23	44,23
Masculino	26	61,90	22	35,48	30	69,77	29	55,77
Total	42	100,00	62	100,00	43	100,00	52	100,00

n: número de individuos.

Se pudo analizar el polimorfismo F13A01 en 82 casos y 101 controles de ambos estados. La tabla 2 muestra las frecuencias alélicas de este STR encontradas en el estado Anzoátegui. En los casos, los alelos más frecuentes fueron el 7 (25,00%), 6 (21,43%), 3.2 y 5 (20,24% cada uno c/u), seguidos del 4 (8,33%), mientras que el 8, 15 y 16 presentaron frecuencias muy bajas (1,00-2,00%), el resto de las repeticiones estuvieron ausentes. Con respecto al grupo control, los alelos 3.2 (22,45%), 6 (21,43%), 7 (20,41%) y 5 (19,38%) también mostraron las mayores frecuencias. El alelo 4 alcanzó una proporción intermedia de 8,16%, mientras que el 8, 9, 10, 11 y 16 estuvieron por debajo de 3,00%. No se observaron las repeticiones del 12 al 15 en esta muestra poblacional. Al comparar ambos grupos se observó que en los casos, el alelo más frecuente fue el 7 (25,00%) y en los controles el 3.2 (22,45%), El 9 estuvo presente sólo en los controles (2,04%).

Tabla 2. Frecuencias alélicas del polimorfismo F13A01 del FXIII de la coagulación sanguínea, en individuos con y sin trombosis arterial pertenecientes al estado Anzoátegui.

Alelos	Casos		Controles	
	n	Frecuencia (%)	n	Frecuencia (%)
3.2	17	20,24	22	22,45
4	7	8,33	8	8,16
5	17	20,24	19	19,38
6	18	21,43	21	21,43
7	21	25,00	20	20,41
8	2	2,38	3	3,06
9	0	0,00	2	2,04
10	0	0,00	1	1,02
11	0	0,00	1	1,02

12	0	0,00	0	0,00
13	0	0,00	0	0,00
14	0	0,00	0	0,00
15	1	1,19	0	0,00
16	1	1,19	1	1,02
Total	84	100,00	98	100,00

n: número total de alelos.

La tabla 3 muestra las frecuencias alélicas del STR F13A01 en el estado Sucre. Se encontraron nueve alelos diferentes en la muestra poblacional con trombosis arterial estudiada en este estado, los más frecuentes fueron el 3.2 (10,00%), 4, 6 y 7 (18,75%, c/u), 5 y 8 (13,75%, c/u). Los alelos 12, 15 y 16 presentaron frecuencias menores de 2,50%, mientras que el 9, 10, 11, 13 y 14 no se observaron. En el grupo control el más frecuente fue el alelo 7 (26,92%) seguido del 5 (21,15%), 4 (15,38%), 3.2 (12,50%), 6 (9,62%) y 8 (5,77%). El 9, 11, 12, 13 y 16 se observaron en frecuencias menores de 3,00%, sin embargo el 10, 14 y 15 no tuvieron representación. El alelo 15 estuvo presente en los casos de Anzoátegui (1,19%) y Sucre (2,50%) y ausente en los respectivos controles; mientras que el 9, uno de los más infrecuentes en la mayoría de las poblaciones estudiadas, se observó en los grupos controles de ambos estados (2,08% y 0,96%, respectivamente).

Tabla 3. Frecuencias alélicas del polimorfismo F13A01 del FXIII de la coagulación sanguínea, en individuos con y sin trombosis arterial pertenecientes al estado Sucre.

Alelos	Casos		Controles	
	n	Frecuencia (%)	n	Frecuencia (%)
3.2	8	10,00	13	12,50
4	15	18,75	16	15,38
5	11	13,75	22	21,15
6	15	18,75	10	9,62
7	15	18,75	28	26,92
8	11	13,75	6	5,77
9	0	0,00	1	0,96
10	0	0,00	0	0,00
11	0	0,00	1	0,96

12	1	1,25	1	0,96
13	0	0,00	3	2,88
14	0	0,00	0	0,00
15	2	2,50	0	0,00
16	2	2,50	3	2,88
Total	80	100,00	104	100,00

n: número total de alelos.

La tabla 4 presenta los genotipos de F13A01 observados en Anzoátegui. Se encontraron 17 genotipos en los casos, siendo los más frecuentes el 5/6 (14,29%), 5/7 (11,90%), 3.2/6, 3.2/7 y 6/7 (9,52%, c/u), 7/7 (7,14%), 3.2/3.2, 3.2/4, 3.2/5, 4/5, 6/6 (4,76% c/u). Los controles mostraron 20 combinaciones, siendo las más frecuentes la 5/6 y 7/7 (10,20%, c/u), 3.2/3.2, 3.2/4 y 5/7 (8,16%, c/u), 3.2/5, 3.2/6, 4/6 y 6/6 (6,12%, c/u), 3.2/7, 5/5, 6/7 y 7/8 (4,08%, c/u).

Tabla 4. Frecuencias genotípicas del STR F13A01 en pacientes con trombosis arterial y en individuos controles provenientes del estado Anzoátegui.

Genotipos	Casos		Controles	
	n	Frecuencia (%)	n	Frecuencia (%)
3.2/3.2	2	4,76	4	8,16
3.2/4	2	4,76	4	8,16
3.2/5	2	4,76	3	6,12
3.2/6	4	9,52	3	6,13
3.2/7	4	9,52	2	4,08
3.2/8	1	2,38	1	2,04
3.2/10	0	0,00	1	2,04
4/4	1	2,38	0	0,00
4/5	2	4,76	1	2,04
4/6	0	0,00	3	6,12
4/7	1	2,38	0	0,00
5/5	1	2,38	2	4,08
5/6	6	14,29	5	10,2
5/7	5	11,90	4	8,16
5/9	0	0,00	1	2,04
5/16	0	0,00	1	2,04
6/6	2	4,76	3	6,12
6/7	4	9,52	2	4,08
6/9	0	0,00	1	2,04
6/11	0	0,00	1	2,04
7/7	3	7,14	5	10,2

7/8	1	2,38	2	4,08
15/16	1	2,38	0	0,00
Total	42	100,00	49	100,00

n: número total de genotipos.

La tabla 5 muestra los genotipos de F13A01 en el estado Sucre. Los casos presentaron veintiún combinaciones diferentes, siendo las más frecuentes 7/8 (35,00%), 4/6 (25,00%), 6/6 (15,00%). En los controles, de los veintidós tipos encontrados, los de mayor proporción fueron 3.2/7 y 5/5 (11,54%).

Tabla 5. Frecuencias genotípicas del polimorfismo F13A01 en pacientes con trombosis arterial y en un grupo control provenientes del estado Sucre.

Genotipos	Casos		Controles	
	n	Frecuencia (%)	n	Frecuencia (%)

3.2/3.2	2	5,00	2	3,85
3.2/4	1	2,50	1	1,92
3.2/5	2	5,00	1	1,92
3.2/6	1	2,50	1	1,92
3.2/7	0	0,00	6	11,54
4/4	2	5,00	2	3,85
4/5	2	5,00	0	0,00
4/6	5	25,00	2	3,85
4/7	1	2,50	3	5,77
4/8	0	0,00	4	1,92
4/9	0	0,00	1	1,92
4/11	0	0,00	1	1,92
4/12	1	2,50	0	5,85
4/15	1	2,50	0	0,00
5/5	1	2,50	6	11,54
5/6	1	2,50	2	3,85
5/7	2	5,00	5	9,62
5/12	0	0,00	1	1,92
5/13	0	0,00	1	1,92
5/15	1	2,50	0	0,00
5/16	1	2,50	0	0,00
6/6	3	15,00	0	0,00
6/7	1	2,50	3	5,77
6/13	0	0,00	0	0,00
6/16	1	2,50	0	0,00
7/7	2	5,00	4	7,69
7/8	7	35,00	1	1,92
7/16	0	0,00	2	3,85
8/8	2	5,00	0	0,00
8/16	0	0,00	1	1,92
Total	40	100,00	52	100,00

n: número total de genotipos.

Con respecto al polimorfismo de tipo SNP, se pudieron analizar 85 casos y 101 controles. En la tabla 6 se reportan las frecuencias alélicas de Val34Leu en los individuos del estado Anzoátegui, mostrándose una proporción de 82,14% para Valina34 y 17,86% para Leucina34 en los pacientes, mientras que los controles, presentaron frecuencias de 87,75% y 12,24%, respectivamente. Leucina34 mostró menor porcentaje en los controles, en comparación con los individuos aparentemente sanos pertenecientes a los estados Sucre (18,00%) y Nueva Esparta (17,00%), según datos reportados por Vivenes y cols. (2008).

Tabla 6. Frecuencias alélicas del polimorfismo Val34Leu del FXIII de la coagulación sanguínea, en pacientes con trombosis arterial y en un grupo control pertenecientes al estado Anzoátegui.

Alelos	Casos		Controles	
	n	Frecuencia (%)	n	Frecuencia (%)
Valina	69	82,14	86	87,75
Leucina	15	17,86	12	12,24
Total	84	100,00	98	100,00

n: número total de alelos.

En la tabla 7 se exponen las frecuencias alélicas de Val34Leu del FXIII en individuos del estado Sucre. Se observó en los pacientes, una proporción de Valina³⁴ (87,21%) superior a la de Leucina³⁴ (12,79%), con una tendencia similar en el grupo control (81,73% y 18,27%, respectivamente), sin embargo con mayor valor para Leucina³⁴, que la observada en la muestra evaluada en la población general del estado Anzoátegui.

Tabla 7. Frecuencias alélicas del polimorfismo Val34Leu del FXIII de la coagulación sanguínea, en pacientes con trombosis arterial y en un grupo control pertenecientes al estado Sucre.

Alelos	Casos		Controles	
	n	Frecuencia (%)	n	Frecuencia (%)
Val	75	87,21	85	81,73
Leu	11	12,79	19	18,27
Total	86	100,00	104	100,00

n: número total de alelos.

Las tablas 8 y 9 presentan los genotipos de Val34Leu en los estados Anzoátegui y Sucre. Se observa en Anzoátegui que los casos (64,29%) y los controles (77,55%) mostraron frecuencias mayores para Val/Val; seguido del heterocigoto Val/Leu (33,33% y 20,41%); no obstante, la frecuencia para Leu/Leu (2,38% y 2,04%), fue muy baja en ambos grupos, respectivamente. En Sucre, también se observaron tendencias mayores para Val/Val, tanto en los casos (74,42%), como en los controles (71,15%), seguido de Val/Leu (25,58% y

21,15%, respectivamente), no obstante Leu/Leu estuvo presente sólo en el grupo control (7,70%).

Tabla 8. Frecuencias genotípicas del polimorfismo Val34Leu del FXIII en individuos con trombosis arterial y en un grupo control pertenecientes al estado

Genotipos	Casos		Controles	
	n	Frecuencia (%)	n	Frecuencia (%)
Val/Val	27	64,29	38	77,55
Val/Leu	14	33,33	10	20,41
Leu/Leu	1	2,38	1	2,04
Total	42	100,00	49	100,00

Anzoátegui.

n: número total de genotipos.

Tabla 9. Frecuencias genotípicas del polimorfismo Val34Leu del FXIII en individuos con trombosis arterial y en un grupo control pertenecientes al estado Sucre.

Genotipos	Casos		Controles	
	n	Frecuencia (%)	n	Frecuencia (%)
Val/Val	32	74,42	37	71,15
Val/Leu	11	25,58	11	21,15
Leu/Leu	0	0,00	4	7,70
Total	43	100,00	52	100,00

n: número total de genotipos.

Las tablas 10 y 11 señalan los valores de los parámetros bioquímicos, niveles de fibrinógeno e IMC, en pacientes con patología trombótica e individuos controles de los estados Anzoátegui y Sucre. No existen evidencias de diferencias regionales en los genes que codifican para estas variables, por lo tanto, las mismas fueron analizadas agrupando ambos estados, según el sexo y la presencia o no de trombosis arterial.

En el grupo de pacientes las mujeres presentaron valores superiores en todos los parámetros, a excepción de las HDL-C. Sin embargo, las diferencias

encontradas según el género solo fueron significativas para CT ($p < 0,05$) y VLDL ($p < 0,05$). Mientras que, en los controles, las mujeres tuvieron valores superiores para glicemia, triglicéridos, CT, LDL-C, VLDL-C y Fg, mostrando diferencias significativas solo para los niveles de glicemia ($p < 0,001$) y Fg ($0,01 < p < 0,001$).

Tabla 10. Parámetros bioquímicos, hematológicos y antropométricos en individuos con patología trombótica de los estados Anzoátegui y Sucre, según el sexo.

VARIABLES	Mujeres (n=28) ($\bar{X} \pm DE$)	Hombres (n=57) ($\bar{X} \pm DE$)
Glicemia (mg/dl)	109,26 \pm 37,95	98,25 \pm 18,01
Triglicéridos (mg/dl)	151,44 \pm 61,05	132,25 \pm 59,06
CT (mg/dl)	188,37 \pm 43,94	165,53 \pm 47,91
HDL-C (mg/dl)	36,23 \pm 7,17	37,57 \pm 12,89
LDL-C (mg/dl)	139,23 \pm 45,86	124,42 \pm 58,07
VLDL-C (mg/dl)	31,60 \pm 11,87	25,40 \pm 11,56
IMC (Kg/m ²)	27,10 \pm 4,51	27,10 \pm 3,20
Fg (mg/dl)	436,00 \pm 128,00	418,00 \pm 120,00

\bar{x} : media; DE: desviación estándar; n: número de individuos; CT: colesterol total; HDL-C: colesterol de alta densidad; LDL-C: colesterol de baja densidad; VLDL-C: colesterol de muy baja densidad.

La comparación de los casos vs los controles muestran, en el sexo femenino, valores superiores de triglicéridos (151,44 vs 114,63 mg/dl) y Fg (436,00 vs 411,00 mg/dl). Una condición similar se observó en el sexo masculino entre los pacientes y los controles, en relación con los valores de triglicéridos (132,25 vs 98,43 mg/dl) y Fg (418,00 vs 334,00 mg/dl), respectivamente. Esto podría sugerir una respuesta poco eficiente al tratamiento de elección en los pacientes evaluados en los estados Anzoátegui y Sucre.

Los valores fueron superiores en las mujeres sin antecedentes, en relación a los hombres, lo que supone para éstas, un mayor riesgo metabólico y una predisposición a sufrir algún tipo de evento trombótico arterial fulminante en cualquier momento. Dicho riesgo va incrementándose paulatinamente a medida que avanzan en edad.

Tabla 11. Parámetros bioquímicos, hematológicos y antropométricos en individuos aparentemente sanos de los estados Anzoátegui y Sucre, clasificados según el sexo.

Variables	Mujeres (n=63) $\bar{X} \pm DE$	Hombres (n=51) $\bar{X} \pm DE$
Glicemia (mg/dl)	116,51 \pm 36,28	94,00 \pm 21,37
Triglicéridos (mg/dl)	114,63 \pm 61,83	98,43 \pm 46,38
CT (mg/dl)	185,90 \pm 59,93	189,28 \pm 48,84
HDL-C (mg/dl)	41,80 \pm 15,76	42,85 \pm 16,07
LDL-C (mg/dl)	120,90 \pm 50,08	125,26 \pm 42,51
VLDL-C (mg/dl)	22,46 \pm 11,49	19,53 \pm 9,21
IMC(Kg/m ²)	27,05 \pm 3,49	26,79 \pm 3,68
Fg (mg/dl)	411,00 \pm 163,00	334,00 \pm 119,00

\bar{x} : media; DE: desviación estándar; n: número de individuos; CT: colesterol total; HDL-C: colesterol de alta densidad; LDL-C: colesterol de baja densidad; VLDL-C: colesterol de muy baja densidad.

Se evidenció un mayor valor para las HDL-C en los controles femeninos (41,80 mg/dl) y masculinos (42,85 mg/dl), en relación a los pacientes de ambos sexos (36,23 mg/dl y 37,57 mg/dl, respectivamente). Las pacientes femeninas mostraron valores más elevados en los parámetros de riesgo cardiovascular, incluyendo las LDL-C (139,23 mg/dl), que favorecen la formación de las placas ateromatosas. Este hallazgo está en consonancia con los reportes sobre la influencia del sexo masculino en la presentación del evento de trombosis arterial. Las diferencias encontradas entre casos y controles fueron

significativas para los valores de triglicéridos ($p=0,01$) y VLDL-C ($p<0,001$) de las mujeres; así como para los niveles de triglicéridos, VLDL-C ($p<0,01$ c/u), CT ($p<0,02$) y Fg ($p<0,001$), en los hombres.

En la tabla 12 se observan los parámetros bioquímicos y los niveles de fibrinógeno, en casos con patología trombótica y en individuos controles de los estados Anzoátegui y Sucre, clasificados según los genotipos del polimorfismo Val34Leu. No se observaron diferencias importantes en los parámetros evaluados. En el grupo de casos masculinos con genotipo Val/Val, se observaron valores medios más bajos de CT ($169,54 \pm 47,79$), en comparación con las pacientes femeninas ($186,52 \pm 44,79$) y con los controles. Este grupo de pacientes, a pesar de tener esta condición favorable, poseen como factor de predisposición el género y la presencia de Valina34, reportado como un alelo de mayor riesgo. El efecto de dosis alélica doble pudiera ejercer una mayor influencia en el desencadenamiento de los procesos trombóticos ocurridos en estos individuos.

En los controles, los niveles elevados de CT tanto en el sexo femenino ($186,93 \pm 61,84$ mg/dl) como en el masculino ($194,84 \pm 49,56$ mg/dl), evidencian un gran riesgo de trombosis, considerando que estos individuos presentan genotipos homocigotos Val/Val. Dicho riesgo pareciera ser mayor en los hombres, si se toma en cuenta la influencia del sexo masculino en la presentación de este tipo de patologías, además de los mayores niveles de CT, a expensas de las lipoproteínas LDL-C, conocidas como colesterol malo.

El grupo de pacientes femeninas Val/Leu presentaron mayores valores de triglicéridos ($193,50 \pm 105,97$ mg/dl), CT ($202,80 \pm 50,75$ mg/dl) y LDL-C ($147,20 \pm 60,24$ mg/dl). Aunque estas pacientes portan un alelo Leucina34, considerado en varios estudios como alelo de protección contra patologías arteriales, están expuestas a otros factores externos, tales como las

dislipidemias, que en estos individuos pudieran tener una influencia preponderante en el desencadenamiento de este tipo de eventos.

En los casos, los mayores niveles de fibrinógeno se presentaron en mujeres con Val/Leu ($454,00 \pm 148,00$ mg/dl) y los menores en hombres con ese mismo genotipo ($360,00 \pm 77,00$ mg/dl). En los controles, las mujeres con Val/Leu ($453,00 \pm 207,00$ mg/dl) presentaron niveles de fibrinógeno semejantes a las pacientes femeninas. Estos valores fueron mayores que en hombres aparentemente sanos con ese mismo genotipo ($343,00 \pm 179,00$ mg/dl). En general, los niveles de fibrinógeno fueron mayores en individuos con genotipos Val/Leu, en relación a Val/Val. Algunos estudios han reportado una asociación entre Val34Leu, los niveles de fibrinógeno y la estructura de la malla de fibrina.

No se observó asociación de las variables bioquímicas y antropométricas con los polimorfismos F13A01 y Val34Leu analizados. Aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas, pareciera haber una tendencia a un riesgo por dislipidemias más evidente, que por la influencia de los factores genéticos evaluados en esta muestra poblacional.

La tabla 13 muestra los resultados recopilados en las encuestas realizadas a los individuos estudiados, con respecto a algunos factores modificables de riesgo de enfermedades cardiovasculares. Los datos reportados por los participantes voluntarios señalan una gran proporción de pacientes que nunca ha adquirido el hábito de fumar, siendo mayor el porcentaje en anzoatiguenses (52,38%), en relación a los sucrenses (46,52%), no obstante el grupo de exfumadores (33,33 y 32,16%) y fumadores (14,29 y 20,93%), en ambos estados respectivamente, también tuvieron una representación importante.

Tabla 12. Parámetros bioquímicos y fibrinógeno en individuos con patología trombótica y controles de los estados Anzoátegui y Sucre, clasificados según los genotipos del polimorfismo Val34Leu encontrado.

Genotipos/ Variables (mg/dl)	Casos		Controles	
	Mujeres ($\bar{X} \pm DE$)	Hombres ($\bar{X} \pm DE$)	Mujeres ($\bar{X} \pm DE$)	Hombres ($\bar{X} \pm DE$)
<u>Val/Val</u>				
Glicemia	108,45 ± 38,87	100,83 ± 19,47	118,93 ± 38,74	92,00 ± 14,38
TG	141,05 ± 60,27	135,35 ± 59,19	109,13 ± 63,35	102,26 ± 50,09
CT	186,52 ± 44,79	169,54 ± 47,79	186,93 ± 61,84	194,84 ± 49,56
HDL-C	37,47 ± 7,30	37,63 ± 13,56	43,12 ± 15,35	42,19 ± 16,43
LDL-C	141,37 ± 39,84	130,52 ± 59,44	121,57 ± 52,28	129,94 ± 43,25
VLDL-C	31,11 ± 10,51	37,16 ± 56,69	21,16 ± 11,36	20,42 ± 9,95
Fg	406,00 ± 94,00	443,00 ± 135,00	417,00 ± 161,00	303,00 ± 92,00
<u>Val/Leu</u>				
Glicemia	115,90 ± 15,22	98,18 ± 22,28	110,38 ± 27,97	75,50 ± 2,12
TG	193,50 ± 105,97	125,24 ± 56,56	117,00 ± 50,36	94,14 ± 43,19
CT	202,80 ± 50,75	162,89 ± 48,29	171,36 ± 49,91	192,29 ± 54,23
HDL-c	35,40 ± 6,75	38,35 ± 11,29	39,71 ± 16,78	44,00 ± 19,04
LDL-c	147,20 ± 60,24	114,53 ± 52,17	108,21 ± 36,70	129,71 ± 40,77
VLDL-c	34,80 ± 15,22	25,00 ± 11,24	23,52 ± 10,07	18,71 ± 8,48
Fg	454,00 ± 148,00	360,00 ± 77,00	453,00 ± 207,00	343,00 ± 179,00

\bar{x} : media; DE: desviación estándar; n: número de individuos; TG: triglicéridos; CT: colesterol total; HDL-C: colesterol de alta densidad; LDL-C: colesterol de baja densidad; VLDL-C: colesterol de muy baja densidad.

Tabla 13. Factores de riesgo cardiovascular en individuos con enfermedad tromboembólica arterial pertenecientes al estado Sucre que formaron parte de la investigación.

	Anzoátegui		Sucre	
	n	%	n	%
HABITO DE FUMAR				
Ex fumador	14	33,33	14	32,16
Fumador	6	14,29	9	20,93

Nunca ha fumado	22	52,38	20	46,52
BEBIDAS ALCOHÓLICAS				
Nunca	32	76,19	12	27,91
Esporádico	10	23,81	29	67,44
Semanal	0	00,00	1	02,32
Todos los días	0	00,00	1	02,32
SEDENTARISMO				
Sí	25	59,52	34	79,07
No	17	40,78	9	20,93
ANTECEDENTES FAMILIARES				
Ausencia	18	42,86	26	60,47
ECI-Diabetes	0	00,00	2	04,65
Diabetes	0	00,00	1	02,32
Hcol	0	00,00	0	00,00
Taquicardia	0	00,00	0	00,00
HTA	0	00,00	3	06,98
HTA- Diabetes	0	00,00	2	04,65
HTA-ECI	0	00,00	1	02,32
ECI	24	57,14	8	18,60
HTA-Hcol	0	00,00	0	00,00
HTA-Htg	0	00,00	0	00,00

n: número de individuos; Hcol: hipercolesterolemia; HTA: hipertensión arterial. ECI: enfermedad cardiovascular isquémica. Htg: hipertrigliceridemia.

En el estado Sucre se observó mayor consumo de bebidas alcohólicas (72,08%) y sedentarismo (79,07%), con respecto al estado Anzoátegui (23,81 y 59,52%, respectivamente).

En relación a los antecedentes familiares indicativos de riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares; los anzoatiguenses evaluados señalaron mayor presencia de las mismas, con prevalencia de ECI (57,14%).

En el estado Sucre, se reportó menor proporción de antecedentes que en Anzoátegui (60,47 vs 42,86%), no obstante éstos fueron más variados, con mayor frecuencia de ECI (18,60%), seguido de HTA (6,98%). También se observaron casos de ECI-Diabetes (4,65%), HTA- Diabetes (4,65%), HTA-ECI (2,32%) y Diabetes como único antecedente (2,32%).

En la figura 1, se observa el gel de poliacrilamida, mostrando el polimorfismo F13A01, tomando como patrón la escalera alélica provista en el estuche comercial (Promega, 2001). Se evidencia el patrón de migración de individuos homocigotos y heterocigotos.

La figura 2 presenta el gel de poliacrilamida al 6,00%, en el cual se señalan las bandas por PCR-RFLP para el polimorfismo Val34Leu del FXIII de la coagulación sanguínea (Franco y cols, 2000). Como referencia se utilizó ADN del plásmido pBR 322 digerido con la enzima de restricción Msp. Se aprecia la migración electroforética de muestras de individuos homocigotos Val/Val, y Leu/Leu, así como los heterocigotos Val/Leu.

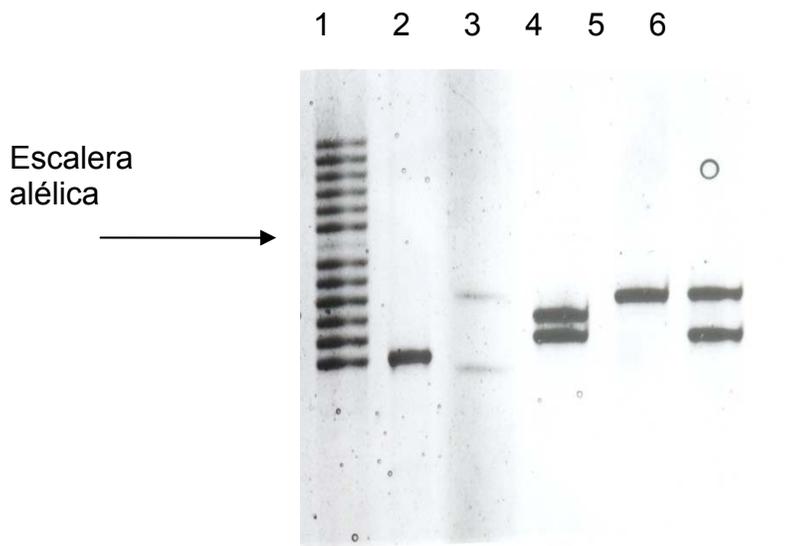


Figura 1. Gel de poliacrilamida, mostrando el polimorfismo F13A01, tomando como patrón la escalera alélica provista en con el kit (Promega, 2001).

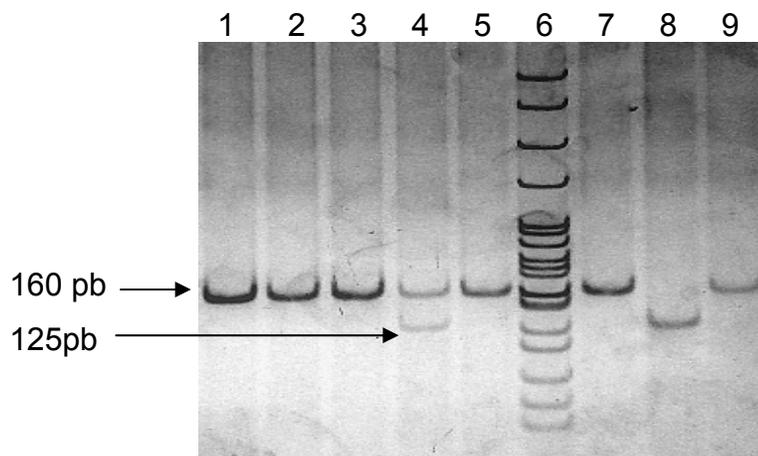


Figura 2. Gel de poliacrilamida al 10,00% el cual muestra las bandas para el polimorfismo Val34Leu del FXIII de la coagulación sanguínea. Pozo 1: muestra sin digerir, pozos 2, 3, 5, 7 y 9: homocigoto Val34; Pozo 4: Val34Leu; Pozo 8: homocigoto Leu34; Pozo 6: patrón (ADN del plásmido pBR 322 digerido con la enzima de restricción Msp).

DISCUSIÓN

La trombosis arterial representa una de las principales causas de muerte tanto en los países industrializados como en aquellos que están en vías de desarrollo, razón por la cual se han incrementado, en la última década, las investigaciones sobre estas patologías, con el propósito de comprender los mecanismos moleculares desencadenantes, el papel de las proteínas implicadas en la formación de trombos y las interacciones gen-gen y gen-ambiente como factores determinantes de riesgo (Kohler y cols., 1998; Anwar y cols., 1999; Organización Mundial de la Salud, 2005; Alonso y cols., 2012).

En el presente estudio, se analizaron las variables género y edad, en individuos que cursaban con eventos de trombosis arterial, y que habían nacido en los estados Anzoátegui o Sucre, cuyas edades oscilaban entre 32 y 86 años; y con padres y abuelos nacidos en las mismas localidades. Los pacientes o sujetos afectados, fueron designados como “casos”, y los individuos aparentemente sanos, como “controles”. En los casos evaluados, se observó una mayor proporción del género masculino (61,90%; n=26 y 69,77%; n=30), con respecto al femenino (38,10%; n=16 y 30,23%; n=13), en ambos estados, respectivamente. Se observó mayor cantidad de casos mayores de 50 años de edad (51-70 años). Estos hallazgos coinciden con reportes previos donde se señalan que el género y la edad son factores predisponentes para el padecimiento de enfermedades trombóticas arteriales (Llopis y cols., 1996; Frohlich y cols., 2001).

Batista (2007) observó que las tasas de incidencia de trombosis arterial, por género, se igualan después de la menopausia. Las mujeres en etapa fértil, tienen una menor frecuencia de fenómenos trombóticos que los hombres de igual edad, debido al papel protector que juegan los estrógenos en la progresión del proceso aterosclerótico. El riesgo aumenta a partir de los 35 años en el

hombre y los 45 en la mujer, siendo la recurrencia del evento proporcional a la edad de los mismos, e igualándose las proporciones en ambos géneros. Los grupos más afectados son los individuos mayores de 60 años (García, 2002; Bertrand y cols., 2003; Iraola y cols., 2003; Paolasso, 2003; Antman y cols., 2004; Tran y cols., 2004; Terkelsen y cols., 2005; Batista, 2007).

Feyzi y cols. (1998) y Taddei y cols. (2001), señalan que la edad avanzada juega un papel importante en el riesgo de trombosis, debido a que, con el transcurrir de los años se incrementa de manera proporcional la rigidez junto con la dilatación de las arterias, producto de la degeneración de las fibras elásticas. Aunado a esto, ocurre un aumento en el contenido de colágeno y del calcio, además de una disminución de la prostaciclina y el óxido nítrico, con una reducción correspondiente de la dilatación dependiente del endotelio. Por otra parte, se produce un aumento de unión de factor de crecimiento derivado de las plaquetas, a las arterias, causado por cambios en el contenido de glicosaminoglicano de la pared del vaso, lo que favorece la progresión de la aterosclerosis y contribuye indirectamente a la aterotrombosis.

Los resultados de la presente investigación concuerdan con lo señalado por Correa y cols. (2003) y por García y cols. (2009), quienes observaron que el IM es más frecuente en pacientes del género masculino, provenientes de México y Cuba, respectivamente. No obstante, las proporciones encontradas para el género femenino en los estados Anzoátegui (38,10%) y Sucre (30,23%) son más elevadas que las encontradas en México (8,00%) y Cuba (16,00%). Olié y cols., (2012), señalan la importancia de seguir en busca de nuevas hipótesis en relación a las diferencias específicas del género, en procesos de trombosis recurrentes, asociadas con un riesgo aumentado en edades más avanzadas, particularmente en el género femenino, y en portadores de ciertas variantes moleculares de predisposición.

En el presente trabajo, el análisis de las variantes genéticas reflejaron en los casos del estado Anzoátegui, que el alelo más frecuente para el STR F13A01 fue el 7 (25,00%), mientras que en Sucre los alelos 4, 6 y 7 fueron los más comunes (18,75% c/u). Son escasas las investigaciones que se han realizado orientadas a la búsqueda de asociación entre el F13A01 y las patologías trombóticas. En tal sentido, Carreras-Torres y Athanasiadis (2010), en un estudio realizado en una muestra poblacional española, en individuos con enfermedad arterial isquémica (EAI), reportaron una frecuencia mayor para el alelo 7 (37,10%), en comparación con la de ambos estados del oriente venezolano. Sin embargo, en España, la frecuencia del alelo 3.2 fue menor (3,20%) que en los pacientes evaluados en los estados Anzoátegui (20,24%) y Sucre (10,00%).

Carreras-Torres y Athanasiadis (2010), sugieren un efecto protector de la variante 3.2, la cual presenta menor número de repeticiones y, por ende, menor longitud o número de pares de bases (pb) en la región promotora del gen que codifica para la subunidad A del FXIII de la coagulación sanguínea. Proponen, además, que el alelo 7 podría implicar un factor de riesgo en las enfermedades trombóticas. Vívenes y cols. (2012), utilizando técnicas inmunológicas, observaron mayor actividad funcional del FXIII, en individuos aparentemente sanos que presentaban alelos con mayor número de repeticiones, reflejando un aumento progresivo de la actividad funcional del factor FXIII de la coagulación sanguínea, desde el alelo 3.2 en adelante, no obstante dicha actividad empezó a descender en presencia del alelo 7.

Los resultados de la presente investigación reflejan en los casos (25,00%) del estado Anzoátegui, una mayor frecuencia del alelo 7, en comparación con los controles (20,41%), y menor proporción del 3.2 (20,24 y 22,45%, respectivamente), no obstante éstas frecuencias son muy semejantes. Este hallazgo difiere de lo observado en el estado Sucre, donde la frecuencia del

alelo 7 en los casos (18,75%), fue menor que en los controles (26,92%), mientras que el 3.2 mostró menor proporción en los afectados (10,00%) con respecto a la muestra poblacional aparentemente sana (12,50%). El efecto de la región promotora, sobre la expresión de la proteína, la actividad funcional y específica de la misma, la estructura de la malla de fibrina formada y el efecto protector o de riesgo, están modulados por múltiples factores epigenéticos que deben seguir siendo investigados.

El polimorfismo F13A01 ha sido analizado principalmente, con un enfoque de genética poblacional. En los controles evaluados en el estado Anzoátegui, el alelo más común fue el 3.2 (22,45%), con una proporción similar a la reportada, en el continente americano por Yunis y cols. (2000), y por Novoa y cols. (2001), en poblaciones aparentemente sanas de Colombia (21,99%) y de Chile (21,37%), respectivamente; no obstante, esta frecuencia es inferior a la descrita por Talledo y cols. (2010), en Huanayo-Perú (35,71%). Al comparar con los reportes en el continente europeo, se observa que las frecuencias de 3.2 son mayores que las obtenidas por Sivolap y cols. (2003) en Ucrania (3,40%), y por Burgos y cols. (2001) en Galicia (5,80%).

En el grupo control del estado Sucre, el alelo más frecuente fue el STR 7 (26,99%), lo cual se asemeja a lo descrito por Yunis y cols. (2000), en individuos aparentemente sanos de Colombia (26,34%), y es superior a los valores obtenidos por Talledo y cols. (2010), en Piura-Perú (18,78%). En comparación con las frecuencias reportadas en Europa, Burgos y cols. (2001) encontraron mayores frecuencias del alelo 7, en Galicia (33,70%). En el continente asiático se ha analizado este polimorfismo en Japón, encontrándose en Indonesia, la frecuencia más baja reportada hasta el momento para el alelo 7 (2,90%); mientras que, en Bangladés se observaron los valores más elevados para el alelo 6 (52,50%) (Kido y cols., 2003).

En los grupos de casos y controles evaluados en ambos estados del oriente de Venezuela, se observó una discontinuidad con una distribución bimodal de las frecuencias alélicas, mostrándose una mayor tendencia entre los alelos 3.2 al 7, no obstante se presentó una gran proporción de genotipos diferentes (24,00 y 30,00%, respectivamente). Estos resultados son similares a los reportados en la mayoría de las poblaciones analizadas. Considerando los datos disponibles y los observados en el presente estudio, se puede deducir que el STR F13A01 es un valioso marcador genético para la caracterización individual y poblacional, debido sus elevados índices de heterocigosis (Burgos y cols., 2001).

Con respecto al polimorfismo Val34Leu, en el presente estudio, se observó que la frecuencia obtenida para Leucina34 en los casos de Anzoátegui (17,86%) es mayor a la encontrada en Sucre (12,79%). Esta se asemeja a la reportada por Corral y cols. (2000) en individuos con síndrome coronario agudo de España (17,00%), sin embargo, es menor al compararla con otros estudios realizados en Europa central, donde Bronic y cols. (2009) y Shemirani y cols. (2010), han descrito frecuencias mayores (22,00-26,00%). Tanto en los casos de Anzoátegui como en los del estado Sucre, las frecuencias de Leucina34 son mucho más elevadas a las señaladas por Hancer y cols. (2006), en pacientes de Turquía (7,69%). Sin embargo, la de Sucre es más baja en comparación con las reportadas por Corral y cols. (2000) y por Gemmati y cols. (2001), en el sur de Europa (17,00% y 18,10%), y por Bronic y cols. (2009) y Shemirani y cols. (2010), en Europa central (22,70% y 25,20%), respectivamente. También difiere de la encontrada por Butt y cols. (2003), en pacientes de Canadá (27,70%). En el presente estudio, las frecuencias del alelo Leucina34, entre los casos y los controles fueron semejantes en cada estado, lo que sugiere que no existe asociación entre el polimorfismo Val34Leu y el evento de trombosis arterial, en la muestra poblacional evaluada en los estados Anzoátegui y Sucre.

Con respecto a las frecuencias genotípicas, de los casos evaluados en los estados Anzoátegui y Sucre, se observó para Val/Val valores mayores (64,29% y 74,21%, respectivamente), en relación a los reportados por Bronic y cols. (2009), en individuos con IM de Croacia (59,20%), y por Shemirani y cols. (2010), en pacientes con enfermedad trombótica isquémica provenientes de Hungría (54,80%). El genotipo Val/Leu obtenido en Anzoátegui (33,33%), reflejó valores semejantes a los observados por Berezky y cols. (2008), en pacientes con IM de Hungría (38,40%), y por Bronic y cols. (2009), en Croacia (36,80%), sin embargo el valor obtenido en Sucre (25,58%) fue mucho menor. La frecuencia de Leu/Leu en los casos de Anzoátegui (2,38%) fue más baja que las encontradas por Berezky y cols. (2008), por Shemirani y cols. (2010) (5,60 y 5,80%, respectivamente), y por Bronic y cols. (2009), (4,30%) en las localidades analizadas por éstos. En el estado Sucre, el genotipo Leu/Leu estuvo ausente en los casos evaluados.

En otros estudio, el polimorfismo Val34Leu se ha relacionado con mayores niveles de actividad de transglutaminasa, sin embargo, las consecuencias bioquímicas que pudiera producir, aún no están bien establecidas, no obstante se ha señalado que la activación de FXIIIa por trombina se produce de 2 a 3 veces más rápido, en presencia de la variante Leucina34. Este hecho parece estar vinculado con alteraciones de la reticulación de la fibrina. En algunas poblaciones esta variante molecular ha mostrado una relación con la incidencia de procesos trombóticos y hemorrágicos, atribuyéndosele un efecto protector contra el padecimiento de infarto de miocardio y del tromboembolismo venoso, y una influencia de predisposición a sufrir hemorragia intracraneal (Canavy y cols., 2000; Franco y cols., 2000; Gemmati y cols., 2001; Reiner y cols., 2002; Wells y cols., 2006).

Kohler y cols. (1998) fueron los primeros que establecieron, el posible efecto de protección del alelo Leucina34 contra el IM, al observar menor prevalencia de

de este alelo en individuos con IM en comparación con un grupo control con características semejantes. El efecto protector del mismo ha sido avalado por varios estudios de esta índole (Wartiovaara y cols., 2000; Corral y cols., 2000; Elbaz y cols., 2000; Franco y cols., 2000; Kakko y cols., 2002), sin embargo, otros no concuerdan con estas afirmaciones (Canavy y cols., 2000; Aleksic y cols., 2002; Atherosclerosis, Thrombosis, Vascular Biology Italian study Group, 2003; Roldan y cols., 2003).

Gemmati y cols. (2001) señalaron que los individuos que poseen Leucina34, aunque están protegidos contra el infarto cerebral y de miocardio, tienen una predisposición a la aparición de hemorragia intracerebral primaria. Reiner y cols. (2002) reportaron un aumento de isquemia, de casi 4 veces, en mujeres jóvenes (n=36) que poseían dos copias de este alelo. Sin embargo, posteriormente, en un estudio más amplio realizado por Pruissen y cols. (2008), con un mayor número de mujeres jóvenes holandesas (n=190), no se observó un efecto significativo del polimorfismo Val34Leu sobre el riesgo de isquemia.

Roldan y cols. (2003) en una muestra poblacional mediterránea, no encontraron el efecto cardioprotector. Contrario a esto, observaron mayor cantidad de Leu/Leu en pacientes que presentaban IM antes de la edad de 35,00 años, en comparación con los individuos controles. Por otra parte, Undas y cols. (2003) sugieren que, en presencia de ciertos factores, la variante Leucina34 del FXIII, podría significar un factor de riesgo para el IM. En tal sentido, se ha demostrado que en presencia de este alelo, conjuntamente con la variante 20210A de la protrombina, el efecto sinérgico, aumenta el riesgo de IM (12,00 veces), en comparación con el grupo control. Además, se ha informado que el polimorfismo Val34Leu del FXIII pierde su efecto protector en presencia de la resistencia a la insulina y el inhibidor del activador del plasminógeno del tipo 1 (PAI-1) (Warner y cols., 2001; Cucuianu y Dican, 2003).

Los resultados publicados hasta la fecha implican que existe una correlación significativa entre el área geográfica y la prevalencia del alelo Leucina³⁴ y que su asociación con la enfermedad arterial coronaria o IM es diferente en distintas poblaciones. La variante molecular Leucina³⁴ es relativamente común en caucásicos (23,00-30,00%), mientras que en los asiáticos del sur y africanos la frecuencia es menor (13,00%-17,00%). Los valores más altos se han reportado en poblaciones indígenas (28,00-40,00%) y los menores en Japón (0,00-1,00%). Algunos autores coinciden en que este polimorfismo no representa un importante marcador genético poblacional, no obstante otros han mostrado ciertas tendencias dependiendo del componente étnico (Franco y cols., 1999; Attié-Castro y cols., 2000; Franco y cols., 2000; Gemmati y cols., 2001; Aleksic y cols., 2002; Roldan y cols., 2003; Hermann y cols., 2004; Wiwanitkit, 2005; Mahfouz y cols., 2007).

En el continente americano se ha evaluado el polimorfismo Val³⁴Leu en poblaciones aparentemente sanas, donde se han reportado frecuencias para la variante Leucina³⁴ en Norteamérica (19,50-27,10%); mientras que en Centroamérica solo existen reportes en San José de Costa Rica (30,50%). En Suramérica existen reportes en Brasil y Venezuela, con valores que varían considerablemente (12,00-30,60%). Particularmente en Venezuela, se han mostrado frecuencias para Leucina³⁴ en varias regiones, nororiental (15,00-23,00%), centroccidental (19,00-20,00%) y en la capital (12,00-30,00%). Las diferencias observadas pueden ser atribuidas a que la mayoría de los países de América presentan importante proporción de mestizaje, y este proceso ha sido diferencial en cuanto al impacto del componente europeo, amerindio y africano implantado en cada localidad (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; Martínez, 2003; Salazar-Sánchez y cols., 2006; Vívenes, 2006; Bernstein y cols., 2007; Cushman y cols., 2007; Izaguirre y cols., 2008; Vívenes y cols., 2008).

Por lo tanto, para aclarar la contribución del polimorfismo Val34Leu del FXIII en la trombosis arterial, es importante analizar no sólo las modulaciones del efecto de varios factores genéticos, sino también la interacción con factores ambientales (Aleksic y cols., 2002; Kakko y cols., 2002; Atherosclerosis, Thrombosis, Vascular Biology Italian study Group, 2003; Hermann y cols., 2004; Wiwanitkit , 2005; Mahfouz y cols., 2007).

Otras variables importantes de analizar en estudios de esta índole son: el perfil lipídico, los parámetros antropométricos que indican obesidad, las concentraciones de fibrinógeno; además del hábito de fumar, la ingesta de bebidas alcohólicas y la práctica de alguna actividad física, entre otros (Atherosclerosis, Thrombosis, Vascular Biology Italian study Group, 2003). A través de las encuestas realizadas a los individuos estudiados, fue posible determinar algunos de los factores ambientales predisponentes para estas enfermedades, incluyendo los antecedentes familiares.

En general, en el presente análisis, la mayoría de las diferencias encontradas en los parámetros bioquímicos, agrupando ambos estados, según el sexo y la presencia o no de trombosis arterial, no mostraron diferencias significativas. Al considerar el género, ambos estados, las pacientes femeninas presentaron valores más elevados para CT y VLDL que los hombres. Las mujeres aparentemente sanas tuvieron valores significativamente superiores en los niveles de glicemia y Fg, con respecto al sexo masculino. Estos resultados para ellas suponen un mayor riesgo metabólico y una predisposición a sufrir algún tipo de evento de trombosis arterial, principalmente a edades más avanzadas. Al comparar entre casos y controles, se señalan diferencias significativas para los valores de triglicéridos y VLDL en las mujeres; así como para los niveles de triglicéridos y VLDL, CT y Fg en los hombres.

En general, no se observaron diferencias importantes en los parámetros evaluados, al agrupar, por género, según los genotipos del polimorfismo Val34Leu. El grupo de pacientes femeninas Val/Leu presentaron mayores valores de triglicéridos ($193,50 \pm 105,97$ mg/dl), colesterol total ($202,80 \pm 50,75$ mg/dl) y LDL-C ($147,20 \pm 60,24$ mg/dl), sugiriendo que el efecto de la presencia de Leucina34, puede interactuar con factores ambientales de predisposición como las dislipidemias.

Apoyando la hipótesis de que las dislipidemias podrían tener un efecto protector contra la enfermedad, Ray (2003), sugiere que las estatinas pueden influir en el riesgo de trombosis. No obstante, según un estudio de meta-análisis, Ageno y cols. (2008) reportaron que las dislipidemias ejercen una influencia leve en el riesgo de trombosis arterial. Observaron que los pacientes con esta patología tenían niveles altos de triglicéridos y bajos de colesterol HDL, con ausencia del efecto de la colesterolemia total. Cáceres (2004) en un estudio realizado en Cuba, señala que los diabéticos insulino dependientes tienen un alto riesgo de padecer cardiopatía isquémica, sin embargo, en jóvenes con esta enfermedad sólo se demuestra la diabetes entre un 15,00-20,00%. Otros autores como Morillas y cols. (2002), al igual que Fontanals y cols. (2003), señalan menos del 10,00%.

El fibrinógeno se ha asociado tradicionalmente, como factor de riesgo cardiovascular. Se observó que los niveles de fibrinógeno fueron mayores en individuos con genotipos Val/Leu, en relación a los Val/Val. Aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas, se pudieron apreciar algunas tendencias de interés. Como se observa en la tabla 12, en los casos del presente estudio, los mayores niveles de fibrinógeno se presentaron en mujeres con Val/Leu ($454,00 \pm 148,00$ mg/dl) y los menores en hombres con ese mismo genotipo ($360,00 \pm 77,00$ mg/dl). En los controles, las mujeres con Val/Leu ($453,00 \pm 207,00$ mg/dl) presentaron niveles de fibrinógeno semejantes

a las mujeres con la patología. Estos valores fueron mayores que en hombres aparentemente sanos con ese mismo genotipo ($343,00 \pm 179,00$ mg/dl). Algunos estudios han reportado una asociación entre el polimorfismo Val34Leu, los niveles de fibrinógeno y la estructura de la malla de fibrina.

Con respecto al fibrinógeno, Kannell y cols. (1987) mostraron que los niveles plasmáticos de esta proteína aumentaron de un valor medio de 280,00 mg/dl, en los individuos de 47-54 años, a más de 300,00 mg/dl, en los de 65-79 años, asumiendo un aumento de 10,00 mg/dl por cada década de edad. Tracy (2002) sugiere que los altos niveles plasmáticos de fibrinógeno pueden desempeñar un papel causal en la alta incidencia de eventos cardiovasculares observados en personas de edad avanzada, tal vez mediante la mejora de la superación de las plaquetas a través de su glicoproteína IIb-IIIa, al servir como un sustrato directo del coágulo y/o por aumento de la viscosidad sanguínea. Alternativamente, los altos niveles de fibrinógeno pueden ser simplemente un marcador del estado inflamatorio crónico típico del envejecimiento, sin que contribuya directamente al riesgo.

La concentración de fibrinógeno, pareciera tener un papel preponderante en el efecto de protección. Según Ariëns y cols. (2000), la presencia de Leucina34 modifica la estructura del coágulo de fibrina, mientras que Lim y cols. (2003) sugieren que este efecto es modulado por las concentraciones del fibrinógeno. En tal sentido, Bereczky y cols. (2007) encontraron que el efecto cardioprotector se impone sólo en presencia de altas concentraciones de fibrinógeno, y sugieren que la alteración de la estructura de la fibrina, en presencia de la variante Leucina34, es más relevante que la activación acelerada del FXIII por influencia de este alelo, lo que no parece tener ninguna relación con una protección frente al proceso aterotrombótico.

Vívenes y cols (2012) señalaron en individuos aparentemente sanos del oriente de Venezuela, que los niveles de fibrinógeno estuvieron dentro del rango de referencia (200,00-300,00 mg/dl). Estos fueron clasificados en tertiles, mostrándose una correlación entre actividad de FXIII y el genotipo ($p < 0,01$), una mayor frecuencia de Leu/Leu (7,02%) y mayor valor de actividad funcional del FXIII, fueron encontrados en el tercer tercil. En ese estudio, los valores de fibrinógeno fueron mayores en individuos Leu/Leu (332,00 mg/dl), menores en Val/Leu (267,00 mg/dl) e intermedios en Val/Val (284,00 mg/dl). La estructura del coagulo de fibrina está influenciada por el polimorfismo Val34Leu y también es modulada por la concentración de fibrinógeno.

Partiendo de las respuestas suministradas por los individuos que participaron en esta investigación, se observa, en el estado Anzoátegui, que más de la mitad nunca adquirieron el habito de fumar (52,38%), mientras que el 47,62% son fumadores y exfumadores. No obstante, en los casos del estado Sucre, el 53,49% corresponde a los exfumadores y fumadores. De acuerdo con estos resultados, el haber adquirido el hábito de fumar pudo incidir o hacer propenso a sufrir algún tipo de trombosis arterial, pues tanto en Anzoátegui como en Sucre, casi la mitad de los casos son fumadores o alguna vez lo fueron. Estos hallazgos son sustentables en otros estudios, donde encontraron que el tabaquismo constituye el factor de riesgo de mayor asociación con la cardiopatía isquémica, afectando hasta el 91,00% de los pacientes (Zimmerman y cols., 1995; Choudhury y Marsh, 1999; Morillas y cols., 2002; Correa y cols., 2003; Marín y Ospina, 2004; García y cols., 2009).

Elbaz y cols. (2000) sugieren una fuerte interacción gen-ambiente y demuestran que el efecto del tabaquismo sobre la trombosis cerebral fue más débil entre los portadores del alelo Leucina34. Resultados similares fueron reportados para IM, por Franco y cols. (2000), que demostraron una reducción del riesgo de la aparición de infarto de miocardio entre los fumadores que portan el alelo

Leucina34. Kohler y cols. (1998) informaron la pérdida del efecto protector del FXIII en presencia de niveles elevados del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) en la circulación y la alta prevalencia del genotipo 4G/4G de PAI-1, lo que sugiere que la fibrinólisis alterada anula el efecto protector en los pacientes con IM y el alelo Leucina34.

Fontanals y cols. (2003), en un estudio realizado en Barcelona-España, encontraron que el tabaquismo representa el factor de riesgo con mayores frecuencias en pacientes con IM, con un porcentaje de 92,00%. De manera similar, Marín y Ospina (2004), en Colombia observaron una frecuencia de 66,50%, y Correa y cols. (2003), en México de 69,00%. Estos estudios sugieren, que los factores de riesgo más comunes para la enfermedad coronaria aterosclerótica, son frecuentemente responsables del desarrollo y aparición del síndrome coronario agudo.

Con respecto al hábito alcohólico, el 76,19% de los pacientes investigados del estado Anzoátegui, contestaron no consumir bebidas alcohólicas, mientras que en Sucre el 72,08% reportaron el consumo de estas bebidas de manera esporádica, semanal y/o todos los días. Algunos estudios indican que un consumo moderado de alcohol no supone un peligro para la salud, siempre que no se combine con medicamentos incompatibles. Explican que la moderación depende de no sobrepasar un par de bebidas al día, en varones, o una, en mujeres y sugieren que los vinos tintos poseen propiedades antioxidantes, que contribuyen al aumento de la lipoproteína de alta densidad (HDL-C) o colesterol bueno y por sus efectos anticoagulantes, que son beneficiosos para la prevención de infartos cerebrales y cardiacos. Sin embargo, no recomiendan beber vino ni ninguna otra forma de alcohol, ya que estos beneficios pueden igualmente conseguirse con actividad física y tomando zumos de frutas y aspirina (German y Walzem, 2000; Booyse y Parks, 2001; Mukamal y cols., 2003).

Mukamal y cols. (2010), así como Costanzo y cols. (2010), reportaron en sus estudios, que el consumo mantenido y excesivo de alcohol puede perjudicar al corazón e incrementar la presión sanguínea. Además, la toxicidad del etanol puede causar una miocardiopatía dilatada en el músculo cardíaco, provocando en el paciente síntomas de insuficiencia cardíaca. Por otra parte, existen determinadas arritmias cardíacas que también están relacionadas con el consumo excesivo de alcohol, como la fibrilación auricular. El alcohol está especialmente contraindicado en pacientes que consumen aspirina o warfarina de forma regular, ya que la suma de sus efectos anticoagulantes podrían desencadenar un derrame cerebral, y en mujeres embarazadas, porque podría dar lugar a malformaciones congénitas, como las cardiopatías congénitas en el feto,

Otra de las interrogantes fue con respecto a la práctica de alguna actividad física. De acuerdo con las respuestas emitidas por los encuestados, se observó que más de la mitad de los casos de los estados Anzoátegui y Sucre (59,52 y 79,07%, respectivamente) indicaron que no realizaban una actividad física, encontrándose que en el estado Sucre el porcentaje de inactividad o sedentarismo se eleva en casi un 20,00%, esto sugiere que el sedentarismo es predominante en los pacientes analizados.

En concordancia con los hallazgos del presente estudio, varias investigaciones epidemiológicas mostraron asociaciones entre la obesidad, el síndrome metabólico y/o diabetes tipo 2, y los eventos de trombosis arteriales (Goldhaber y cols., 1997; Hansson y cols., 1999; Tsai y cols., 2002; Agno y cols., 2006; Agno y cols., 2008).

Agno y cols. (2008), en un meta-análisis, encontraron que de los 63 552,00 pacientes estudiados, el riesgo relativo de sufrir enfermedad trombotica arterial fue para la obesidad de 2,33 (IC del 95% 1,68 a 3,24), para la diabetes de 1,42

(IC 95%: 1,12 a 1,77) y para hipertensión de 1,51 (IC 95%: 1,23 a 1,85); sugiriendo que la obesidad puede conferir un mayor riesgo de padecer algún evento trombótico independientemente del síndrome metabólico, debido a un elevado peso corporal, el cual puede ocasionar deterioro mecánico del sistema de válvulas en las venas profundas de las extremidades inferiores, favoreciendo la estasis venosa. En el mismo meta-análisis se encontró un riesgo mayor no significativo para el hábito de fumar, mientras que Pomp y cols. (2008), en una gran población de casos y controles, observó que el riesgo relativo de eventos trombóticos fue de 1,42 (IC del 95 % CI 1,28-1,58) en los fumadores actuales y de 1,23 (95% IC 1.10-1,37) en los exfumadores, en comparación con el riesgo en individuos que nunca habían fumado.

Moreno y cols. (2006) realizaron un estudio en pacientes fumadores con IM provenientes del Servicio de Cardiología del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza-España, constataron que en el 57,80% de los pacientes, el tabaquismo fue el único factor de riesgo, mientras que el resto (42,20%), presentaban uno o más factores de riesgo coronario asociados al consumo de tabaco. De éstos el más frecuente era la dislipidemia en el 33,30%, seguido de la hipertensión arterial en el 26,00% de los casos y la asociación de los dos (hipertensión arterial y dislipidemia) en el 22,20 %, y señalan que el tabaquismo aumenta el efecto adverso de los otros factores de riesgo de forma sinérgica.

García y cols. (2009) en la muestra analizada en Cuba, reportó que el 86,00% de los casos fumaban, y que el 62,00% sufrían de hipertensión arterial. Llama la atención que aunque la dislipidemia es uno de los factores de riesgo más encontrados, en el estudio realizado en la Habana, Cuba, Delfín Ballesteros sólo se informa un 6,00%.

Turnbull (2003), en un meta-análisis de ensayos controlados aleatorios sobre la presión arterial y la reducción de colesterol, de igual manera Baigent y cols. (2005), Doll y cols. (2004), así como Wannamethee y cols. (2005), en sus

estudios observacionales sobre el abandono del hábito de fumar confirmaron que estos factores de riesgo juegan un papel causal en la enfermedad arterial, en parte, a través de la aterogénesis y de una activación sistémica de la coagulación sanguínea y la inflamación.

Lee y Lip (2003) señalan que las pruebas disponibles de los ensayos aleatorios soportan múltiples estilos de vida que promueven la reducción de peso, dejar de fumar y el ejercicio de moderado a regular para reducir la reactividad plaquetaria y la coagulación, y para promover la fibrinólisis. Los efectos generales se traducen en un mejor pronóstico cardiovascular u otros resultados clínicos beneficiosos en individuos sanos y aquellos con factores de riesgo cardiovascular o enfermedad coronaria establecida. Sin embargo, un alto riesgo residual de episodios isquémicos secundarios, es evidente por los resultados de los últimos registros de práctica clínica, a pesar de las modificaciones del estilo de vida, lo que justifica la necesidad de incorporar prácticas farmacoterapéuticas.

Los hallazgos encontrados en el presente estudio son un gran aporte al conocimiento de la estructura genética de las poblaciones de los estados Anzoátegui y Sucre. Estas son las primeras investigaciones en relación a la asociación de los polimorfismos STR y SNP del FXIII de la coagulación sanguínea y la ocurrencia del evento de trombosis arterial. Es necesario aumentar el número de casos y analizar otras zonas del país, considerando los procesos de estratificación de mezcla génica, con el fin de dilucidar los mecanismos involucrados.

CONCLUSIONES

El alelo 3.2 del STR F13A01, considerado de menor riesgo, en los pacientes de los estados Anzoátegui (20,24%) y Sucre (10,00%), alcanzó frecuencias superiores a las observadas en España (3,20%).

Las frecuencias del alelo 7 del polimorfismo F13A01, considerado de mayor riesgo, en los pacientes de los estados Anzoátegui (25,00%) y Sucre (18,75%) fueron menores a las encontradas en poblaciones españolas parentales (37,10%).

El efecto modulador importante de los alelos 3.2 y 7, no es apreciable debido, probablemente, al tamaño reducido de la muestra, aunado a las elevadas heterocigosis, que dificulta el análisis en este tipo de investigaciones.

La inexistencia de reportes sobre las frecuencias genotípicas del polimorfismo F13A01 y la enfermedad trombótica arterial, impide establecer comparaciones con otras poblaciones a escala nacional y mundial.

La frecuencia del alelo Leucina34 del polimórfico Val34Leu en pacientes de Anzoátegui (17,86%), es semejante a las encontradas en el sur de Europa (17,00-18,10%), no obstante en los pacientes sucrenses (12,79%) es menor.

La muestra poblacional analizada se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Las pacientes o casos femeninas presentan valores superiores en todos los parámetros bioquímicos, a excepción de las HDL, con diferencias significativas para CT ($0,02 < p > 0,05$) y VLDL ($0,02 < p > 0,05$), en relación a los casos

masculinos, lo cual hace suponer un mayor riesgo de sufrir patologías trombóticas, como consecuencia de las dislipidemias, además sugiere posibles fallas en el tratamiento farmacológico.

Las mujeres evaluadas tienen valores más elevados en los parámetros de riesgo cardiovascular, que favorecen la formación de las placas ateromatosas. Esto supone para éstas, un mayor riesgo metabólico y una predisposición a sufrir algún tipo de evento trombótico arterial, principalmente a medida que avanzan en edad.

En este estudio no hubo asociación de las variables bioquímicas y antropométricas con los polimorfismos F13A01 y Val34Leu analizados.

El riesgo por dislipidemias parece ser más evidente, que la influencia de los factores genéticos evaluados en esta muestra poblacional.

En el presente estudio no hubo asociación entre la presencia del polimorfismo Val34Leu, el número de repeticiones de tetranucleótido (AAAG) y el evento de trombosis arterial, en la muestra poblacional analizada.

RECOMENDACIONES

Incrementar el número de individuos (casos y controles) con el objetivo de estudiar las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos F13A01 y Val34Leu para evaluar si se mantienen las mismas tendencias en la población estudiada.

Aumentar el número de STRs y SNPs para determinar si presentan asociación con los factores ambientales y los niveles de fibrinógenos en las poblaciones venezolanas.

Evaluar si existe asociación entre el STR F13A01, los niveles del factor FXIII de la coagulación y la actividad funcional y específica del mismo y el riesgo de padecer enfermedades tromboticas arteriales.

Determinar si existe susceptibilidad genética a las enfermedades cardiovasculares tomando en cuenta el efecto interactivo entre los polimorfismos analizados y otros STRs y SNPs ubicados en la región promotora y en las zonas codificantes de los genes que codifican para las subunidades A y B del FXIII de la coagulación sanguínea.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta, M.; Castro, D.; Izaguirre, M. y Rodríguez-Laralde, A. 2004. Admixture estimates for Churuguara, a Venezuelan town in the State of Falcón. Ann. Hum. Biol., 31: 669-680.

Agno, W.; Prandoni, P.; Romualdi, E.; Ghirarduzzi, A.; Dentali, F.; Pesavento, R.; Crowther, M. y Venco, A. 2006 The metabolic syndrome and the risk of venous thrombosis: a case-control study. J. Thromb. Haemost., 4: 1914–1918.

Agno, W.; Becattini, C.; Brighton, T.; Selby, R. y Kamphuisen, P. 2008. Cardiovascular risk factors and venous thromboembolism: a meta-analysis. Circulation, 117: 93–102.

Aguilar, J. y Garabito, R. 2008. Infarto agudo de miocardio. Rev. Pacea Med. Fam., 5(8): 102-114.

Ajjan, R. y Ariëns, R. 2009. Cardiovascular disease and heritability of the prothrombotic state. Blood Rev., 23(2): 67-78.

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

Alonso, A., Alonso, O. y Grau, R. 2012. Infarto agudo de miocardio en pacientes jóvenes ingresados en cuidados intensivos. CorSalud, 4(1):20-29.

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.

Antman, E.; Anbe, D.; Armstrong, P.; Bates, E.; Green, L.; Hand, M.; Hochman, J.; Krumholz, H.; Kushner, F.; Lamas, G.; Mullany, C.; Ornato, J.; Pearle, D.; Sloan, M.; Smith, S.; Alpert, J.; Anderson, J.; Faxon, D.; Fuster, V.; Gibbons, R.; Gregoratos, G.; Halperin, J.; Hiratzka, L.; Hunt, S. y Jacobs, A. 2004. American college of cardiology/american heart association task force on practice guidelines (Writing committee to revise the 1999 guidelines for the management of patients with acute myocardial infarction). Circulation, 110(5): 588-636.

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

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.

Atherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology Italian Study Group. 2003. No evidence of association between prothrombotic gene polymorphisms and the development of acute myocardial infarction at a young age. Circulation, 107:1117–1122.

Attíe-Castro, F.; Zago, M.; Lavinha, J.; Elion, J.; Rodriguez-Delfin, L.; Guerreiro, J. y Franco, R. 2000. Ethnic heterogeneity of the factor XIII Val34Leu polymorphism. Thromb. Haemost., 84: 601– 603.

Baigent, C.; Keech, A.; Kearney, P.; Blackwell, L.; Buck, G.; Pollicino, C.; Kirby, A.; Sourjina, T.; Peto, R.; Collins, R. y Simes, R. 2005. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. Lancet, 366: 1267–1278.

Batista, J. 2007. Uso de estreptoquinasa recombinante: experiencias en los centros de diagnóstico integral. Estado Falcón, julio 2005-diciembre 2006. Trabajo para optar por el Título de Máster en Urgencias y Emergencias Médicas en la APS.

Bereczky, Z.; Balogh, E.; Katona, É.; Czuriga, I.; Édes, I.; Muszbek, L. 2007. Elevated factor XIII level is associated with an increased risk of myocardial infarction in women. Haema., 92:287–8.

Bereczky, Z.; Balogh, E.; Katona, É.; Czuriga, I.; Kárpáti, L.; Shemirani, A.; Édes, 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.

Bernard, J. 1993. Diagnóstico y tratamiento clínico para el laboratorio. Novena edición. Ediciones científicas y técnicas, España.

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

Bertrand, M.; Simoons, M.; Fox, K.; Wallentin, L.; Hamm, V.; Ardissino, D.; Betriu, A.; Cokkinos, D.; Falk, E.; Fox y K. 2003. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. The task

force on the management of acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology. Eur. Heart. J., 24: 28-66.

Booyse, F. y Parks, D. 2001. Moderate wine and alcohol consumption: beneficial effects on cardiovascular disease. Thromb. Haemost., 86(2): 517-28.

Borjas-Fajardo, L.; Zambrano, M.; Fernandez, E.; Pineda, L.; Machin, A.; de Romero, P.; Zabala, W.; Sanchez, M.; Chacin, J. y Delgado, W. 2003. Analysis of *BsmI* polymorphism of the vitamin D receptor (VDR) gene in Venezuelan female patients living in the state of Zulia with osteoporosis. Invest. Clin., 44: 275-282.

Bottenus, R.; Ichinose, A. and Davie, E. 1990. Nucleotide sequence of the gene for the B subunit of human factor XIII. Biochemistry, 29: 11195-11209.

Burgos, L.; Carril D. y Caeiro, B. 2001. Análisis del STR HUMF13A01 en las poblaciones de Galicia y Cabo Verde. Rev. Esp. Antrop. Biol., 22: 1-8, 18.

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, 10: 3037- 3041.

Bronic', A.; Ferenc'ak, G.; Zadro, R.; Stavljenic'-Rukavina, A. y Bernat R. 2009. Impact of FXIII-A Val34Leu polymorphism on coronary artery disease in Croatian patients. Mol. Biol. Rep., 36: 1-5.

Cáceres, F. 2004. Cardiopatía isquémica en el adulto joven. Rev. Cub. Med. Int. Emerg., 3(2): 1-4.

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.

Carreras-Torres, R. y Athanasiadis, G. 2010. Allele-allele interaction within the F13A1 gene: A risk factor for Ischaemic Heart Disease in Spanish population. Thromb. Res., 126: e241-e245.

Chiurillo, M.; Morales, A.; Mendes, A.; Lander, N.; Tovar, F.; Fuentes, A. y Ramírez, J. 2003. Genetic profiling of a central Venezuelan population using 15 STR markers that may be of forensic importance. Forensic. Sci. Int., 136: 99-101.

Choudhury, L. y Marsh, J. 1999. Myocardial infarction in young patients. Am. J. Med., 107(3): 254-61.

CIOMS. 1993. Normas éticas internacionales para las investigaciones biomédicas con sujetos humanos. Publicación científica 563, Organización Panamericana de la Salud, Washington.

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

Correa, A.; Macías, M.; Robledo, R.; Ramírez, J. y Hernández, J. 2003. El infarto agudo del miocardio en pacientes jóvenes. Med. Int. Mex., 19(1): 3-7.

Costanzo, S.; Di Castelnuovo, A.; Donati, M.; Iacoviello, L. y De Gaetano, G. 2010. Alcohol consumption and mortality in patients with cardiovascular disease. A meta-analysis. J. Am. Coll. Cardiol., 55: 1339-1347.

Cucuianu, M. y Dican, L. 2003. Coagulation factor XIII and atherothrombosis: a minireview. Rom. J. Int. Med., 41: 339-355.

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.

Dahlbäck, B. 2000. Blood coagulation. The Lancet, 355: 1627-1632.

Davie, E. y Ratnoff, O. 1964. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. Science, 145: 1310-1312.

Da Woon, J.; Gyoung, T.; Wook, L.; Chan, B.; Gil, K.; Gyumg, Y. y Jung, C. 1998. Detection of proteins in poliacrilamida gels using eriochrome blak Trhodaminh B. Anal. Biochem., 263: 118-120.

Delfín Ballesteros, C.; Rodríguez, F.; Domínguez, A.; Rodríguez, A. y De León, N. 2006. Infarto agudo del miocardio en la unidad de cuidados intensivos de emergencias. Rev. Cub. Med. Int. Emerg.; 5(4):571-577.

Doll, R.; Peto, R.; Boreham, J. y Sutherland, I. 2004. Mortality in relation to smoking: 50 years' observations on male British doctors. BMJ, 328: 1519.

Elbaz, A.; Poirier, O.; Canaple, S.; Chedru, 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.

Feyzi, E.; Saldeen, T.; Larsson, E.; Lindahl, U. y Salmivirta, M. 1998. Age-dependent modulation of heparan sulfate structure and function. J. Biol. Chem., 273: 13395–13398.

Fontanals, M.; Buzón, E.; López, G.; Pérez, N. y Rodríguez, R. 2003. Estudio de los factores de riesgo en pacientes con infarto agudo de miocardio menores de 45 años. Home. Cardiopatía isquémica- Ischemic Heart disease. Hospital Universitario de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, España.

Franco, R.; Pazin-Filho, A.; Tavella, M.; Simoes, M.; Marin-Neto, J. y Zago, M. 2000. Factor XIII val34leu and the risk of myocardial infarction. Haema., 85: 67-71.

Frohlich, J.; Diobiasova, M.; Lear, S. y Jae, L. 2001. The role of risk factors in the development of atherosclerosis. Crit. Rev. in clin. Lab. Scienc., 38: 401-440.

García, R. 2002. Cardiopatía isquémica en temas de guardia clínicos y quirúrgicos. La Habana. Edit. Ciencias Médicas, 3: 23-37.

García, L.; Ramírez, J.; Llanes, M.; Jiménez, J. y Alegret, M. 2009. Estudio de la cardiopatía isquémica en pacientes menores de 45 años. CorSalud, 1(4).

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. hematomol., 67: 183-188.

German, J. y Walzem, R. 2000. The health benefits of wine. Annu. Rev. Nutr., 20: 561-593.

Goldhaber, S.; Grodstein, F.; Stampfer, M.; Manson, J.; Colditz, G.; Speizer, F.; Willett, W. y Hennekens, C. 1997. A prospective study of risk factors for pulmonary embolism in women. J. Am. Med. Ass., 277: 642–5.

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.

Hansson, P.; Eriksson, H.; Welin, L.; Svärdsudd, K. y Wilhelmsen, L. 1999. Smoking and abdominal obesity. Risk factors for VTE among middle-aged men. "The study of men born in 1913" Arch. Int. Med., 159: 1886–1890.

Hermann, F.; Salazar-Sanchez, L.; Schuster, G.; Jiménez-Arce, G.; Grimm, R.; Gomez, X.; Chavez, M.; Wulff, K. y Schröder, W. 2004. Prevalence of eight

molecular markers associated with thrombotic disease in six Amerindian Tribes and two African groups of Costa Rica. Am. J. Hum. Biol., 16: 82–86.

Ichinose, A. y Davie, E. 1988. Characterization of the gene for the A subunit of human factor XIII (plasma transglutaminase), a blood coagulation factor. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 85: 5829-5833.

Ingram, GIC. 1952. The determination of plasma fibrinogen by the clot-weight methods. Biochem J., 51: 583-5.

Iraola, M.; Santana, A.; Rodríguez, B.; Valladares, F. 2003. Asociación de la mortalidad hospitalaria por infarto del miocardio con la edad, el sexo, la localización y el uso de trombolíticos. Home Cardiopatía isquémica, Cienfuegos, Cuba.

Izaguirre, M.; Vivenes, 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.

Kakko, S.; Elo, T.; Tapanainen, J.; Huikuri, H. y Savolainen, M. 2002. Polymorphisms of gene affecting thrombosis and risk of myocardial infarction. J. Clin. Invest., 32: 643–648.

Kannell, W.; Wolf, P.; Castelli, W. y D'Agostino, R. 1987. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. The Framingham Study. JAMA, 258: 1183–1186.

Kida, M.; Souri, M.; Yamamoto, M.; Saito, H. y Ichinose, A. 1999. Transcriptional regulation of cell type-specific expression of the TATA-less A subunit gene for human coagulation factor XIII. J. Bio. Chem., 274(10): 6138–6147.

Kido, A.; Susukida, R.; Oya, M.; Fujitani, N.; Kimura, H. y Hara, M. 2003. Allele frequency distributions of four STR loci vWA, TH01, TPOX and F13A01 in three Asian populations (Japanese, Bangladeshis and Indonesians). International Cong. Ser., 1239: 105–108.

Kohler, H.; Stickland, M.; Ossei-Gerning, N.; Carter, A.; Mikkola, H. y Grant, P. 1998. Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with myocardial infarction. Thromb. Haemost., 79: 8–13.

Lahiri, D. y Nurberger, J. 1991. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from for RFLP studies. Nucleic Acids Research, 19: 5444.

Lee, K. y Lip, G. 2003. Effects of lifestyle on hemostasis, fibrinolysis, and platelet reactivity: a systematic review. Arch. Intern. Med., 163: 2368–2392.

Lim, B.; Ariëns, R.; Carter, A.; Weisel, J. y Grant, P. 2003. Genetic regulation of fibrin structure and function: complex gene-environment interactions may modulate vascular risk. Lancet, 361: 1424–1431.

Llopis, R.; Chorro, V. y García, H. 1996. Importance of clinical measures of ischemia in the pronosis of patients with documented coronary artery disease. J. Am. Coll. Cardiol., 11: 20-26.

Macfarlane, R. 1964. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biological amplifier. Nature, 202: 498-499.

Mahfouz, R.; Sabbagh, A.; Shammaa, D.; Otrrock, Z.; Zaatari, G. y Taher, A. 2007. Factor XIII gene V34L mutation in the Lebanese population: another unique feature in this community?. Mol. Biol. Rep., 35(3): 375-378.

Mann, K.; Brummel, K. y Butenas, S. 2003. What is all thrombin for?. J. Thromb. Haemostas., 1: 1504-1514.

Marín, F.; Roldána, V. y Sogor, F. 2002. Polimorfismo Val34Leu del factor XIII e infarto de miocardio prematuro. Rev. Esp. Cardiol.; 55(10):1105-1107.

Marín, F. y Ospina, L. 2004. Infarto agudo del miocardio en adultos jóvenes menores de 45 años. Rev. Colomb. Cardiol., 11(4): 193-204.

Marquett, Darcys. 2010. Polimorfismo FXIII VAL34LEU en Donantes de Sangre del Hospital Dr. Luis Razetti de la Ciudad de Tucupita, Estado Delta Amacuro. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

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.

Mateo, J.; Santamaría, A.; Borrell, M.; Souto, J. y Fontcuberta, J. 2001. Fisiología y exploración de la hemostasia. En: Hematol. Clín.. Sans, J.; Basses, C. y Vives, J. (eds). Harcourt, Madrid.

McKenzie, S. 2000. Hematología clínica. Segunda edición. El Manual Moderno. México D.F. – Santa Fé de Bogotá.

Monroe, D.; Roberts, H. y Hoffman, M. 1994. Transmission of a procoagulant signal from tissue-bearing cells to platelets. Br. J. Haematol., 88: 364-371.

Monroe, D. y Hoffman, M. 2006. What does it take to make a perfect clot?. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 26:41-48.

Moreno, E.; Pérez, A.; Herrero, I.; Usón, T. y Placer, L. 2006. Características clínico-funcionales en pacientes fumadores con infarto agudo de miocardio y su situación a los 5 años. Prevención del Tabaquismo, 8(4): 148-55.

Morillas, P.; Cabadés, A.; Bertomeu, V.; Echanove, I.; Colomina, F. y Cebrián, J. 2002. Infarto agudo de miocardio en pacientes menores de 45 años. Rev. Esp. Cardiol., 55(11): 1124-1131.

Mukamal, K.; Conigrave, K.; Mittleman, M.; Camargo, C.; Stampfer, M.; Willett, W. y Rimm, E. 2003. Roles of drinking pattern and type of alcohol consumed in coronary heart disease in men. N. Engl. J. Med., 348: 109-18.

Mukamal, K.; Chen, C.; Rao, S. y Breslow, R. 2010. Alcohol consumption and cardiovascular mortality among US adults, 1987 to 2002. J. Am. Coll. Cardiol.; 55: 1328-1335.

Müller, F. y Renné, T. 2008. Novel roles for factor XII-driven plasma contact activation. Curr Opin Hematol, 15: 516-521.

Muszbek, L.; Yee, L. y Hevessy, Z. 1999. Blood coagulation factor XIII: structure and function. Thromb. Res., 94: 271-305.

Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem., 153: 375-380.

Novoa, M.; Labbé, C.; Jorquera, H.; Moreno, F.; Aguirre, M. y Cifuentes, L. 2001. Study of three hypervariable loci in a mixed chilen population. Rev. Méd. Chil., 129: 75-79.

Olié, V.; Zhu, T.; Martinez, I.; Scarabin, P. y Emmerich, J. 2012. Sex-specific risk factors for recurrent venous thromboembolism. Thromb. Res., 130: 16-20.

Olympus Diagnostica 2004a. Inserto de Glicemia N° OSR6121.

Olympus Diagnostica 2004b. Inserto de Triglicéridos N° OSR6133.

Olympus Diagnostica 2004c. Inserto de Colesterol N° OSR6116.

Olympus Diagnostica 2004d. Inserto de HDL-c N° OSR6187.

Organización Mundial de la Salud, 2005. Evite los infartos de miocardio y los accidentes cerebrovasculares. No sea una víctima, protéjase.

Paolasso, E. 2003. Desarrollo de un modelo simple para clasificar el riesgo al ingreso hospitalario en el infarto agudo del miocardio (Score ICR). Home. Cardiopatía isquémica, Argentina.

Páramo, J.; Orbe, J. y Rodríguez, J. 2003. Estabilización de la placa de ateroma: un nuevo concepto basado en la biología dinámica de la aterosclerosis. Med. Clin. Barc., 121: 583-587.

Páramo, J.; Panizo, E.; Pegenaute, C. y Lecumberri, R. 2009. Coagulación 2009: una visión moderna de la hemostasia. Rev. Med. Univ. Navarra, 53(1): 19-23.

Penchaszadeh, V. 2002. Debate: ética de las investigaciones biomédicas en poblaciones humanas. Rev. Cub. Sal. Pub., 28:2.

Pereira, J. 2007. Trombofilia y trombosis arterial. Rev. Chil. Cardiol., 26: 97-103.

Pérez Requejo, J. y Pérez García, M. 1995. Mecanismo normal de la coagulación. En Pérez Requejo, J. Hematología. 3 era. Edición. Disinlimed, J.A. Caracas. 795-836.

Pineda-Bernal, L.; Borjas-Fajardo, L.; Zabala, W.; Fernández, E.; Delgado, W.; Salas, A.; Sánchez-Diz, P. y Carracedo, A. 2002. Data for nine autosomal STRs markers (CSF1PO, D13S31, D16S539, D7S820, F13A01, FESFPS, TH01, vWA, TPOX) from Venezuela. Forensic Sci. Int., 3265.

Polymeropoulos, M.; Rath, D.; Xiao, H. y Merrill, C. 1991. Tetranucleotide repeat polymorphism at the human coagulation factor FXIII A subunit gene (F13A1). Nucl. Acids. Res., 19: 4306.

Pomp, E.; Lenselink, A.; Rosendaal, F. y Doggen, C. 2008. Pregnancy, the postpartum period and prothrombotic defects: risk of venous thrombosis in the MEGA study. J. Thromb. Haemost., 6: 632-637.

Promega. 2001. Geneprint STR multiplex System-F13A01, FESFPS, vWA (FFv Triplex).

Pruissen, D.; Slooter, A.; Roseendaal, F.; Van der Graaf, Y. y Algra, A. 2008. Coagulation factor XIII gene variation, oral contraceptives, and risk of ischemic stroke. Blood, 111: 1282-1286.

Ray, J. 2003. Dyslipidemia, statins and venous thromboembolism: a potential risk factor and a potential treatment. Curr. Opin. Pulm. Med., 9: 378–384.

Reed, T. y Schull, W. 1968. A general maximum likelihood estimation program. Am. J. Hum. Genet., 20: 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.

Roldán, V.; Corral, J.; Marín, F.; Rivera, J.; Pineda, J.; 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.

Ross, R. 1999. Atherosclerosis: an inflammatory disease. N. Engl. J. Med., 340: 115-126.

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

Salazar-Sánchez, L.; Chaves, L.; Cartin, M.; Schuster, G.; Wulff, K.; Schröder, W.; y Herrmann, F. 2006. Common polymorphisms and cardiovascular factors in patients with myocardial infarction of Costa Rica. Rev. Biol. Trop., 54(1): 1-11.

Shemirani, A.; Haramura, G.; Bagoly, Z. y Muszbek, L. 2006. The combined effect of fibrin formation and factor XIII a subunit Val34Leu polymorphism on the activation of factor XIII in whole plasma. Biochim. Biophys. Acta, 1764: 1420-1423.

Shemirani, A.; Pongrácz, E.; Antalfi, B.; Ádány, R. y Muszbek, L. 2010. Factor XIII A subunit Val34Leu polymorphism in patients suffering atherothrombotic ischemic stroke. Thromb. Res., 126: 159-162.

Simmons, A., Rodríguez-Larralde, A. y Rodríguez-Arroyo, G. 2007. Admixture estimates based on ABO, Rh and nine STRs in two Venezuelan regions. Ann. Hum. Biol., 34:56–67.

Sivolap, Y.; Chebotar, S. y Krivda, G. 2003. Allele frequencies of the STR-loci F13A01, F13B, TPOX in population sample from the Ukraine. Internat. Cong. Ser., 1239: 153-155.

Sokal, R. y Rohlf, J. 1981. Principios y métodos estadísticos en la investigación

biológica. Primera edición. Blume. Madrid.

Spronk, H.; Govers-Riemslang, J. y Ten Cate, H. 2003. The blood coagulation system as a molecular machine. BioEssays, 25: 1220-1228.

Taddei, S.; Viridis, A.; Ghiadoni, L.; Salvetti, G.; Bernini, G.; Magagna, A. y Salvetti, A. 2001. Age-related reduction of no availability and oxidative stress in humans. Hypertension, 38:274-9.

Talledo, M.; Gavilán, M.; Choque, C.; Aiquipa, L.; Arévalo, J. y Montoya, Y. 2010. Comparative allele distribution at 16 STR loci between the Andean and coastal population from Peru. Forensic Science International: Genetics, 4: e109-e117.

Terkelsen, C.; Lassen, J.; Norgaard, B.; Gerdes, J.; Jensen, T.; Gotzsche, L.; Nielsen, T. y Andersen, H. 2005. Mortality rates in patients with ST-elevation vs. non-ST-elevation acute myocardial infarction: observations from an unselected cohort. Eur. Heart. J., 26:18-26.

Tracy, R. 2002. Hemostatic and inflammatory markers as risk factors for coronary disease in the elderly. Am. J. Geriatr. Cardiol., 11:93-100.

Tran, C.; Laupacis, A. y Mamdani, M. 2004. Effect of age on the use of evidence-based therapies for acute myocardial infarction. Am. Heart. J. (United States), 148(5): 834-841.

Trinder, P. 1974. Evulation and treatment of high blod cholesterol in adults. Ann. Clin. Biochem., 6: 24-27.

Tsai, A.; Cushman, M.; Rosamond, W.; Heckbert, S.; Polak, J. y Folsom, A. 2002. Cardiovascular risk factors and VTE incidence. Arch. Int. Med., 162:1182-1189.

Turnbull, F. 2003. Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration. Effects of different blood-pressure-lowering regimens on major cardiovascular events: results of prospectively-designed overviews of randomised trials. Lancet, 362: 1527-1535.

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. 2006. Polimorfismos del AND en el gen que codifica para la subunidad A del factor XIII de la coagulación y su relación con la actividad

funcional en individuos aparentemente sanos del oriente del país. Tesis de doctorado. CEA-IVIC. Caracas, Venezuela.

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. Venezuela.

Vívenes, M.; Castro de Guerra, D.; Rodríguez-Larralde, Á.; Arocha-Piñango, C. y Guerrero, B. 2012. Activity and levels of factor XIII in a Venezuelan admixed population: association with rs5985 (Val35Leu) and STR F13A01 polymorphisms. Thromb. Res., 130: 729-734.

Wannamethee, S.; Lowe, G. y Shaper, A. 2005. The metabolic syndrome and insulin resistance: relationship to haemostatic and inflammatory markers in older non-diabetic men. Atherosclerosis, 181: 101-108.

Warner, D.; Mansfield, M. y Grant, P. 2001. Coagulation factor XIII and cardiovascular disease in UK Asian patients undergoing coronary angiography. Thromb. Haemost., 85: 408-411.

Wartiovaara, U.; Mikkola, H.; Szoke, G.; Haramura, G.; Karpati, L.; Balogh, I.; Lassila, R.; Muszbek, L. y Palotie, A. 2000. Effect of Val34Leu polymorphism on the activation of the coagulation factor XIII-A. Thromb. Haemost., 84: 595-600.

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.

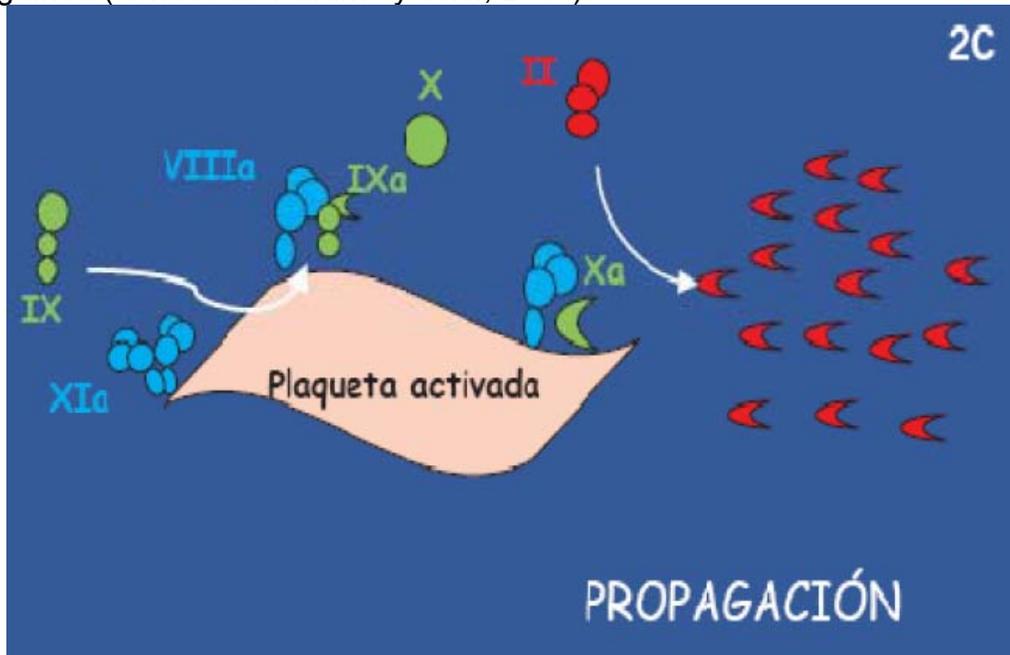
Wiwanitkit, V. 2005. Frequency of factor XIII Val34Leu polymorphism an some different ethnicity, a preliminary note. Haema., 8(2):318-320.

Yunis, J.; García, O.; Uriarte, I. y Yunis, E. 2000. Population data on 6 short tandem repeat loci in a sample of Caucasian-Mestizos from Colombia. Int. J. Legal. Med., 113: 175-178.

Zimmerman, F.; Cameron, A.; Fisher, L. y Grace, N. 1995. Myocardial Infarction in Young Adults: Angiographic Characterization, Risk Factors and Prognosis (Coronary Artery Surgery Study Registry). JACC, 26(3): 654-61.

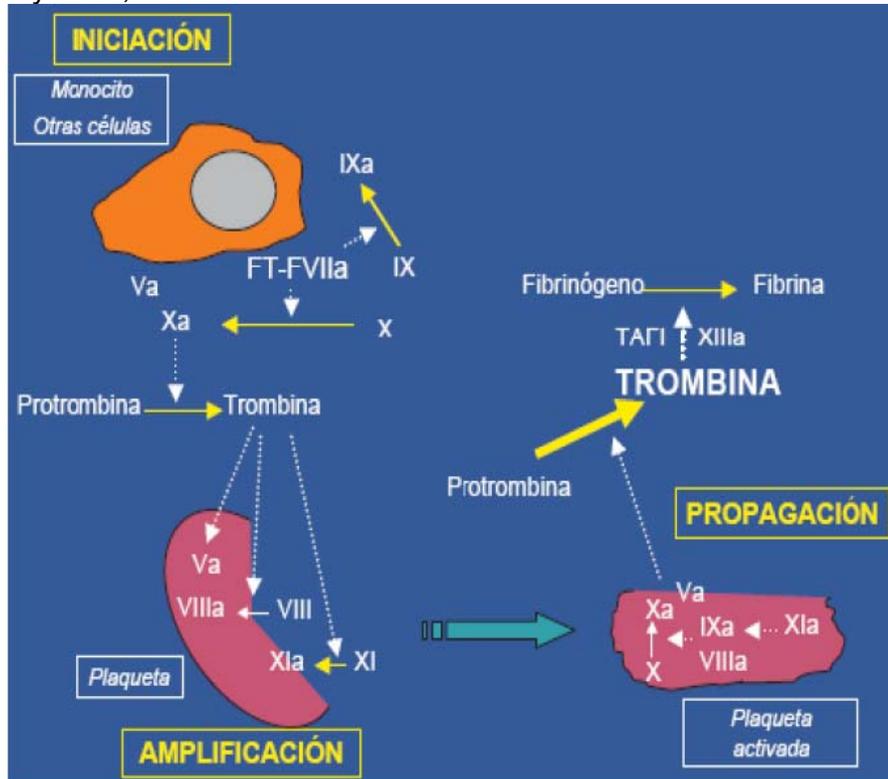
ANEXO 4

Fase de propagación, modelo celular de la cascada de la coagulación sanguínea (tomado de Páramo y cols., 2009).



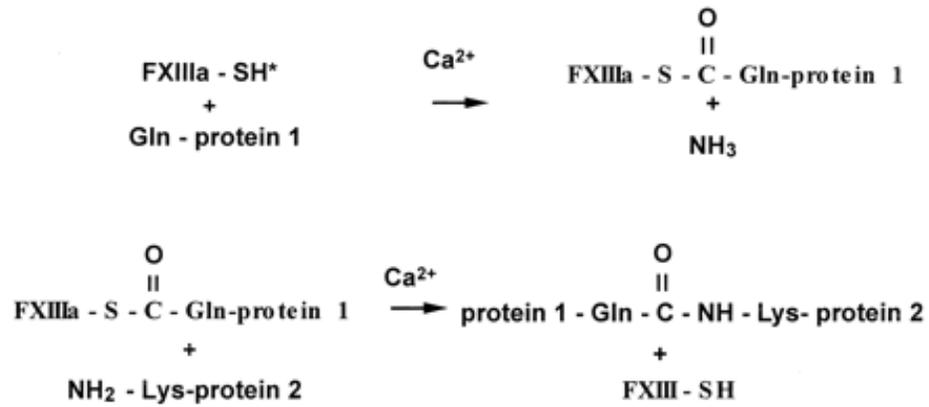
ANEXO 5

Modelo celular de la coagulación integrando las vías intrínseca y extrínseca, Páramo y cols., 2009.



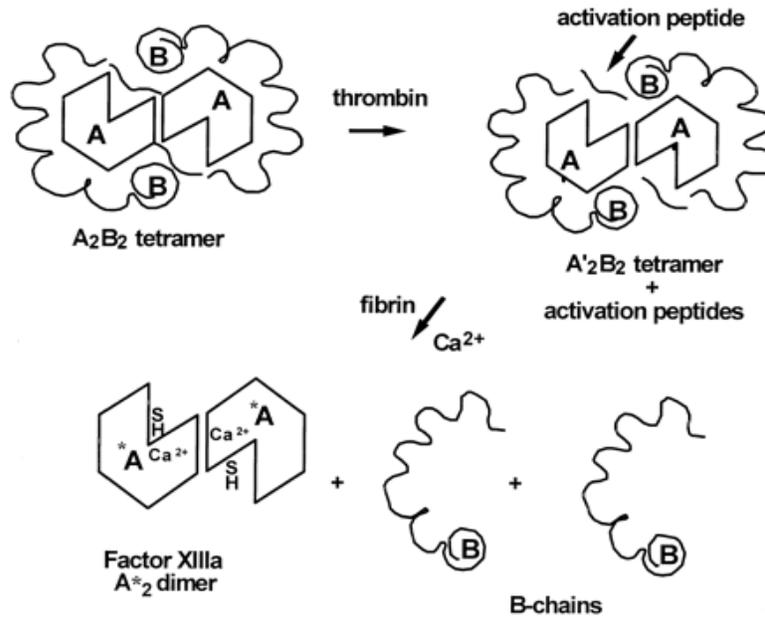
ANEXO 6

Reacción de entrecruzamiento catalizada por la actividad del FXIII (tomado de Ariëns y col., 2002).



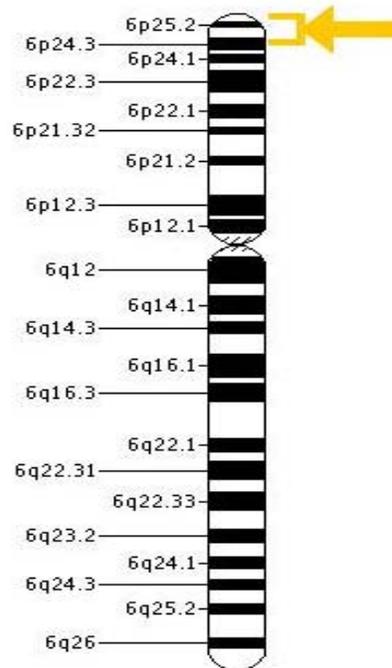
ANEXO 7

Estructura tetramérica y activación del FXIII de la cascada de la coagulación (tomado de Ariëns y cols., 2002).



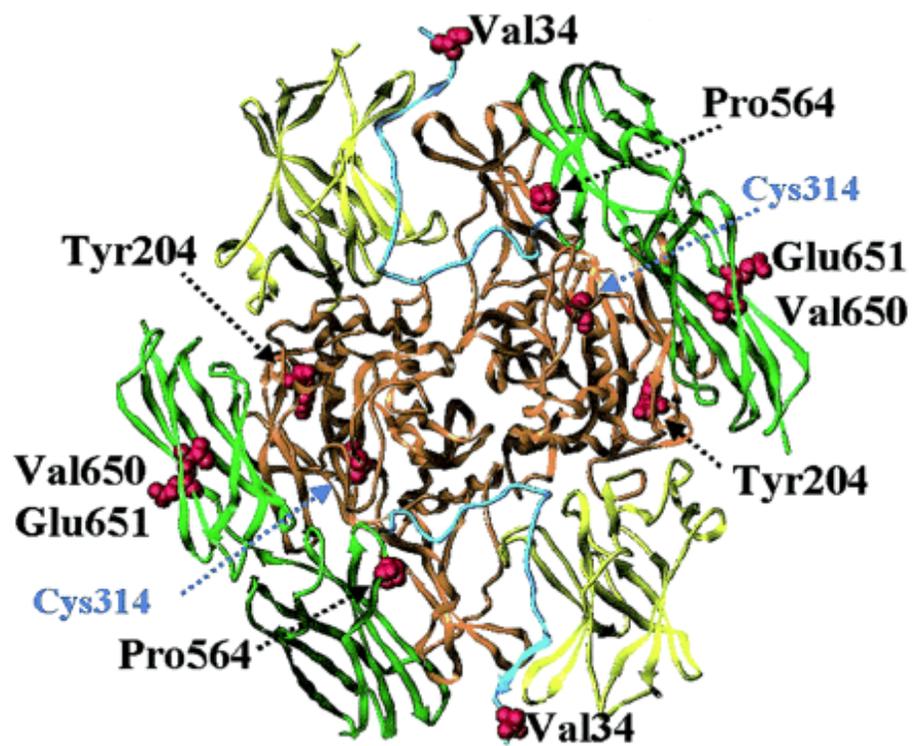
ANEXO 8

Localización del polimorfismo F13A01.



ANEXO 9

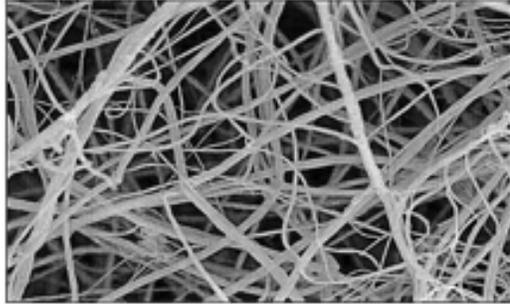
Estructura del FXIII-A y localización de polimorfismos comunes ubicados en la región codificante del gen F13A (Ariëns y cols., 2002).



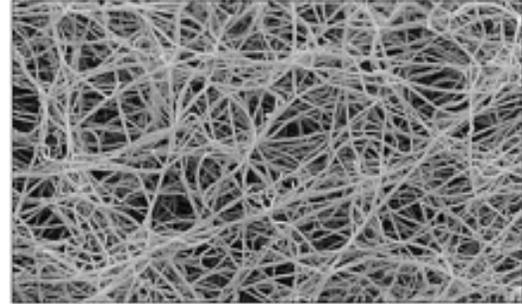
ANEXO 10

Efecto de polimorfismo Val34Leu del FXIII sobre la estructura reticulada de la fibrina (tomado de Ariëns y cols., 2002).

A
34Val

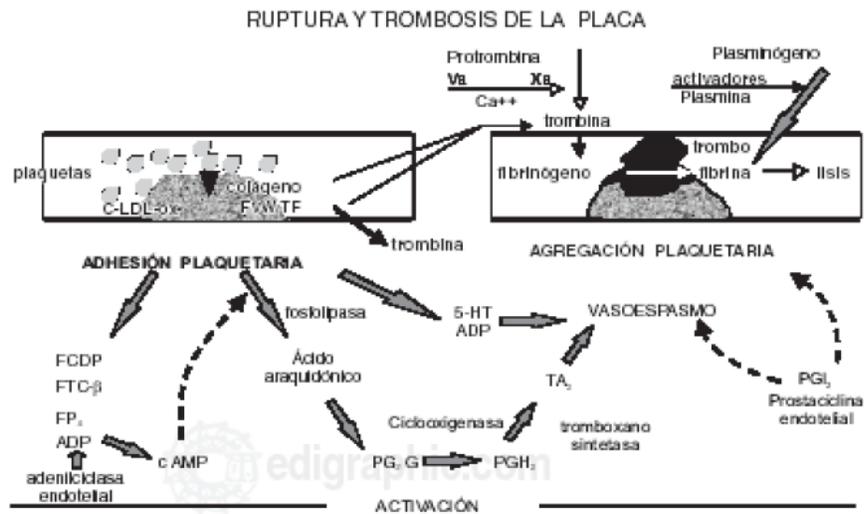


B
34Leu



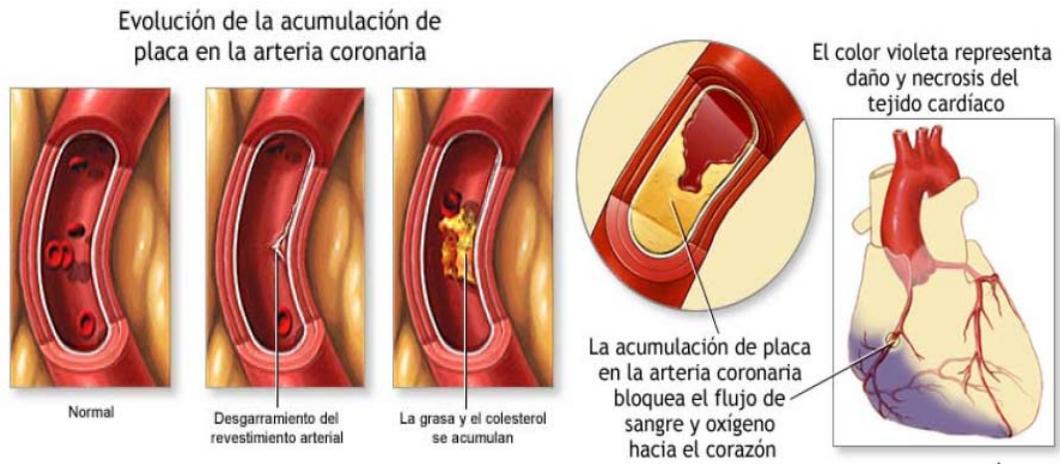
ANEXO 11

Ruptura y trombosis de la placa de ateroma inestable. Adhesión, activación y agregación plaquetaria. Vasoespasmo. Activación de la cascada de la coagulación. Formación del trombo de fibrina. Activación de la plasmina. Fibrinólisis (tomado de Aguilar y Garabito, 2008).



ANEXO 12

Evolución de la acumulación de placa en la arteria coronaria (tomado de Aguilar y Garabito, 2008).



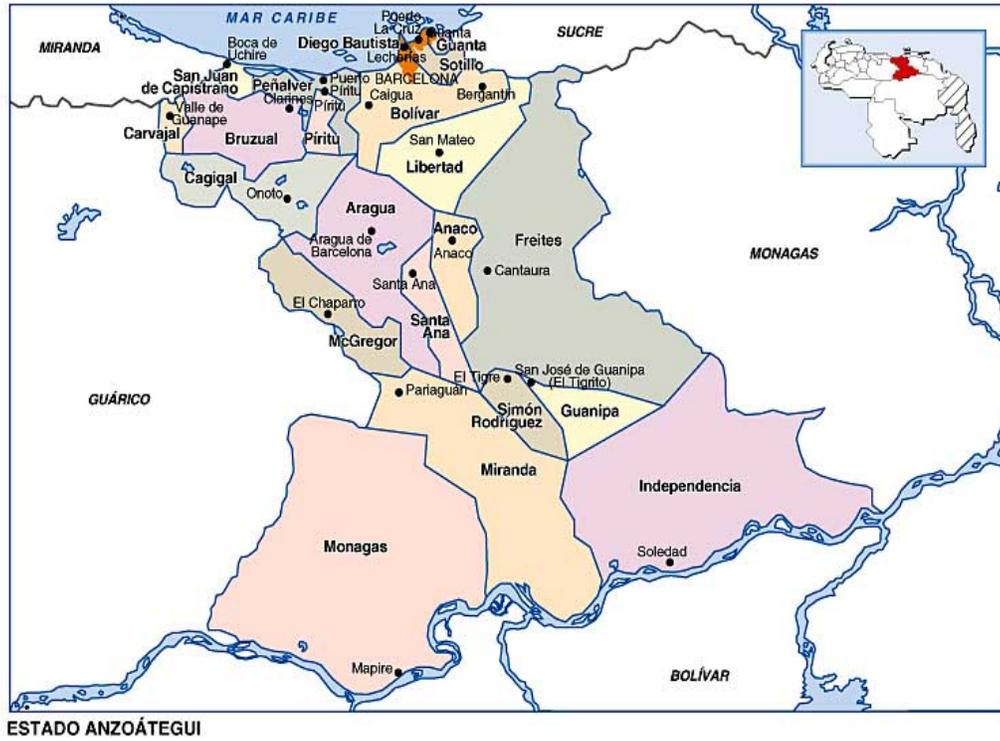
ANEXO 13

Crterios de control en prevenci3n secundaria de la Cardiopatía Isquémica (tomado de Aguilar y Garabito, 2008).

Crterios de control en prevenci3n secundaria de la Cardiopatía Isquémica ^{1,2}		
	Objetivo de control	Precisa Intervenci3n
Colesterol (mgrs/dl)	<200	>230
LDL (mgrs/dl)	<100	>130
HDL (mgrs/dl)	>40	<35
Triglicéridos (mgrs/dl)	<150	>200
Tensi3n Arterial (mgrs/dl)	<140/90 Si diabetes, o IRC <130/80	>140/90 >130/80
Consumo de tabaco	No	Si
HbA1C (%)	<7	>8

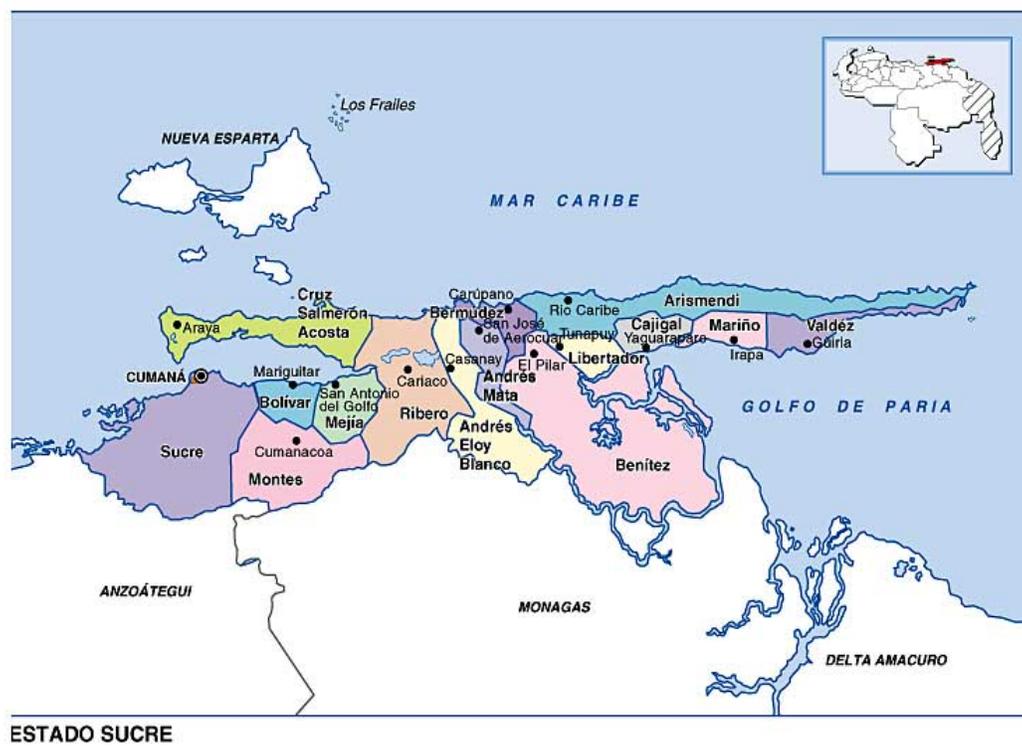
ANEXO 14

Mapa del estado Anzoátegui.



ANEXO 15

Mapa del estado Sucre.



ANEXO 16

CONSENTIMIENTO PREVIA INFORMACIÓN

(Hoja 1 de 3)

Título del Estudio:

“VARIANTES MOLECULARES EN REGIONES PROMOTORAS Y CODIFICANTES DEL GEN F13A, EN PACIENTES CON TROMBOSIS ARTERIAL NACIDOS EN LOS ESTADOS ANZOÁTEGUI Y SUCRE”.

Objetivos de la investigación:

Este estudio permitirá detectar algunas características genéticas (hereditarias) que pudieran estar promoviendo la formación o la persistencia de coágulos (trombos) en las arterias, produciéndose la enfermedad conocida como trombosis arterial. Gracias a su participación, a través de la donación de una muestra de sangre, estas características podrán ser detectadas mediante la comparación y análisis genéticos con pacientes con trombosis arterial.

Procedimientos:

El estudio tendrá una duración de un año. Si usted acepta participar necesitaremos:

- De una muestra de sangre (10 cc), la cual se extraerá por punción venosa en uno de sus antebrazos.
- Tomar su peso, talla y tensión arterial.
- Que informe sobre los datos requeridos para llenar una encuesta sobre sus antecedentes poblacionales, médicos y hábitos nutricionales.
- Que podamos contactarlo en caso de requerir una segunda muestra o datos adicionales que complementen dicho estudio.

Con su autorización, se procederá a utilizar su muestra de sangre para el análisis genético que permita determinar las características genéticas de una población aparentemente sana, con el fin de poder comparar estos resultados con los obtenidos del grupo de individuos con la enfermedad. Los análisis genéticos serán realizados mediante técnicas de biología molecular. Se realizarán también algunos análisis sobre variables de laboratorio como glicemia, triglicéridos y colesterol total y fraccionado. Los resultados de estos análisis le serán entregados a usted, para lo cual podrá contactarnos por los números telefónicos de los responsables del proyecto que se mencionan al final de este formulario.

Para el análisis genético se realizará la extracción del ADN, y para los estudios bioquímicos se utilizará el suero, los restantes componentes de su sangre serán descartados.

Las muestras de sangre serán almacenadas en Laboratorio de Genética Humana del IVIC bajo la responsabilidad de la Dra. Dinorah Castro y estarán identificadas con un código único y exclusivo. Solamente los investigadores responsables tendrán acceso a una lista que vincule su nombre con el código de la muestra de sangre. El ADN extraído para esta investigación podrá ser conservado para realizar futuros estudios relacionados con este tema, una vez que sean aprobados por el Comité de Bioética del IVIC.

CONSENTIMIENTO PREVIA INFORMACIÓN (continuación)

(Hoja 2 de 3)

Importancia y beneficios de su participación:

Gracias a su colaboración mediante una muestra de sangre, este estudio podrá ser utilizado para conocer las causas o factores de riesgo genéticos relacionados con la Trombosis Arterial. La aplicación de los resultados del estudio aportará, a los médicos especialistas, mayores conocimientos sobre esta enfermedad, lo que permitirá establecer tratamientos más efectivos para la mejoría y prevención en las personas con riesgo.

Los resultados obtenidos con su muestra permitirán, por una parte, establecer datos estadísticos sobre la prevalencia de las causas de la trombosis arterial en nuestro país y además podrán contribuir al conocimiento científico en general, ya que éstos serán publicados en revistas científicas especializadas. Tanto las muestras como los resultados obtenidos en este estudio serán utilizados únicamente para fines académicos y/o clínicos, y no podrán ser utilizados para fines comerciales.

Riesgos:

Su participación no implica riesgo ni inconveniente para su salud ni la de sus familiares.

Confidencialidad:

Todos los datos obtenidos de la investigación serán mantenidos en absoluto secreto y toda la información sobre su persona será solo accesible a los investigadores y médicos involucrados en el estudio. Su identidad no será hecha pública en ninguno de los manuscritos científicos o en las presentaciones que se realicen en eventos científicos.

Derecho a negarse a participar:

La participación en este estudio es voluntaria. Usted puede negarse a participar en el estudio o interrumpir su participación en cualquier momento.

Preguntas:

Debido a que se utilizaron algunos términos técnicos en este formulario de consentimiento, si existe algo que usted no entienda, por favor pregunte sobre esto sin dudar.

Por favor tome su decisión de participar en este estudio sólo después de haber examinado detenidamente el contenido de este formulario.

En caso de que tenga cualquier pregunta sobre este estudio, por favor contacte al investigador principal:

Investigador Principal:
Dinorah Castro
Telf. 0212 5041087
Email: dcastro@ivic.ve

Centro de Investigación:
Laboratorio de Genética Humana
Centro de Medicinal Experimental
Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas
(IVIC)

Directora:
Merlyn Vívenes
Telf. 0426 6206569
Email: merlynvivenes@hotmail.com

Investigador colaborador- Visitante
del Laboratorio de Genética Humana (IVIC)
Docente del Departamento de Bioanálisis.
Universidad de Oriente. Núcleo Sucre.

ANEXO 17

Consentimiento:

Yo, _____ portador(a) de la cédula de identidad _____ he sido informado(a) de manera amplia, clara y sencilla y mis preguntas han sido contestadas en relación a la investigación titulada “VARIANTES MOLECULARES EN REGIONES PROMOTORAS Y CODIFICANTES DEL GEN F13A, EN PACIENTES CON TROMBOSIS ARTERIAL NACIDOS EN LOS ESTADOS ANZOÁTEGUI Y SUCRE”, que se llevará a cabo en forma conjunta entre el Laboratorio de Genética Humana del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), el Laboratorio de Genética del Departamento de Bioanálisis, Núcleo Sucre de la Universidad de Oriente y las Áreas de Cardiología de los Hospitales Luis Razetti del estado Anzoátegui; y Antonio Patricio de Alcalá, del estado Sucre, coordinado por las Dras. Dinorah Castro y Merlyn Vívenes; por lo tanto manifiesto estar de acuerdo en participar en él, por lo que acepto me sean tomadas las muestras sanguíneas necesarias para tal fin, autorizando que:

- 1.- Mis muestras sean utilizadas para este estudio..... SI ____ NO ____
- 2.- Mis muestras puedan ser almacenadas, luego de terminado este estudio, para ser utilizadas en futuras investigaciones relacionadas con este tema, siempre que éstas sean aprobadas por el Comité de Bioética del IVIC SI ____ NO ____
- 3.- Se me realicen las mediciones de peso, talla y tensión arterial.
- 4.- Que se determinen los valores de glicemia y perfil lipídico.
- 5.- Se me aplique la encuesta para informar sobre mis antecedentes poblacionales, médicos y nutricionales.

He recibido una copia de este consentimiento.

Nombre y apellido: _____

Firma: _____

Fecha: / /

Firma del investigador
Principal

Testigos:

Nombre y apellido

C.I.

Firma

- 1.
- 2.

ANEXO 18

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 alfabetada.
- 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:

HOJAS DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	Variantes moleculares en regiones promotoras y codificantes del gen f13a1, en pacientes con Trombosis Arterial nacidos en los estados Anzoátegui y Sucre
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Peña Landaeta, Meribeth del Valle	CVLAC	18 212 232
	e-mail	meribacksmiley@hotmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Factor XIII, polimorfismos F13A01 y Val34Leu.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Escuela de Ciencias.	Departamento de Bioanálisis.

Resumen (abstract):

El objetivo general del estudio consistió en analizar las variantes genéticas F13A01 y Val34Leu, ubicadas en la región promotora y codificante del gen que expresa la subunidad A del factor XIII de la coagulación sanguínea, en pacientes con trombosis arterial y en un grupo control, nacidos en los estados Sucre y Anzoátegui. Para tal fin, se tomaron muestras de sangre de 85 pacientes, de ambos sexos (42 del estado Anzoátegui y 43 del estado Sucre), con edades comprendidas entre 32 y 86 años, que acudieron a la consulta de cardiología de los Hospitales “Luis Razetti” de Barcelona, estado Anzoátegui y “Antonio Patricio De Alcalá” de Cumaná, estado Sucre, y de un grupo control con características semejantes. Se evaluaron las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos F13A01 y Val34Leu del FXIII de la coagulación sanguínea. Además, a cada individuo se le determinó el perfil lipídico, glicemia y fibrinógeno (Fg). Las frecuencias alélicas y genotípicas se determinaron por conteo directo. Se aplicó la prueba de relación de verosimilitud G^2 para determinar el equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W). Se compararon los parámetros bioquímicos y los niveles de Fg de los individuos evaluados, según los genotipos de Val34Leu, aplicando una prueba de *t*-Students. Los resultados obtenidos señalan para el polimorfismo F13A01, que en los casos del estado Anzoátegui, prevaleció el alelo 7 (25,00%) y en los controles el 3.2 (22,45%); mientras que, en los casos del estado Sucre predominaron los alelos 4, 6 y 7 (18,75%, c/u), siendo este último, también el más frecuente en los controles de ese estado. Se encontraron diecisiete genotipos del polimorfismo F13A01 en los casos de Anzoátegui, siendo el más frecuentes el 5/6 (14,29%); sin embargo, en el estado Sucre se observaron veintiuna combinaciones diferentes, mostrando mayor proporción la 7/8 (35,00%). Con respecto al polimorfismo Val34Leu, en el estado Anzoátegui, el alelo Leucina34 se observó en mayor cantidad de casos (17,86%) que en controles (12,24%). Mientras que en Sucre, fue menos frecuente en casos (12,79%) en comparación con los controles (18,27%). El genotipo homocigoto Leu/Leu, se encontró más frecuentes en los casos (2,38%) que en los controles (2,04%) anzoatiguenses, no obstante en el estado Sucre estuvo ausente en los casos y elevado en los controles (7,70%). El grupo de pacientes femeninas Val/Leu presentaron mayores valores de triglicéridos ($193,50 \pm 105,97$ mg/dl), CT ($202,80 \pm 50,75$ mg/dl) y LDL-C ($147,20 \pm 60,24$ mg/dl). Aunque estas pacientes portaban un alelo Leucina34, considerado en varios estudios como alelo de protección contra patologías arteriales, la presencia de otros factores de riesgo, tales como las dislipidemias, pudieron haber tenido una influencia preponderante en el desencadenamiento del evento trombótico. El tamaño reducido de la muestra, aunado a las elevadas heterocigosis en F13A01 dificulta el análisis en investigaciones de ésta índole.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail				
Merlyn Vívenes	ROL	C <input type="checkbox"/>	A <input checked="" type="checkbox"/>	T <input type="checkbox"/>	J <input type="checkbox"/>
		A <input type="checkbox"/>	S <input type="checkbox"/>	U <input type="checkbox"/>	U <input type="checkbox"/>
	CVLAC				
	e-mail				
Sonia Nusetti	ROL	C <input type="checkbox"/>	A <input type="checkbox"/>	T <input type="checkbox"/>	J <input checked="" type="checkbox"/>
		A <input type="checkbox"/>	S <input type="checkbox"/>	U <input type="checkbox"/>	U <input type="checkbox"/>
	CVLAC				
	e-mail				
Chelita Hernández	ROL	C <input type="checkbox"/>	A <input type="checkbox"/>	T <input type="checkbox"/>	J <input checked="" type="checkbox"/>
		A <input type="checkbox"/>	S <input type="checkbox"/>	U <input type="checkbox"/>	U <input type="checkbox"/>
	CVLAC				
	e-mail				

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

Colocar fecha de discusión y aprobación:

2013	05	17
-------------	-----------	-----------

Lenguaje: **SPA** _____

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis-peñam.doc	Aplication/word

Alcance:

Espacial:

Temporal:

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciada en Bioanálisis.

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciada.

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 – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CU N° 0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
SISTEMA DE BIBLIOTECA
RECIBIDO POR *[Firma]*
FECHA 5/8/09 HORA 5:30

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLAÑOS CUNDELO
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Telemática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) : “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.

Peña Meribeth



Prof: Merlyn Vívenes


Asesor