



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

ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS MONONUCLEOTÍDICOS UBICADOS EN EL  
GEN QUE CODIFICA PARA LA APOLIPOPROTEÍNA A-IV EN INDIVIDUOS QUE  
ASISTEN AL BANCO DE SANGRE DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO  
“ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ” CUMANÁ, ESTADO SUCRE  
(Modalidad: Tesis de Grado)

ANNIBELIS TRINIDAD PRADA VELÁSQUEZ

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

CUMANÁ, 2011

ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS MONONUCLEOTÍDICOS UBICADOS EN EL  
GEN QUE CODIFICA PARA LA APOLIPOPROTEÍNA A-IV EN INDIVIDUOS QUE  
ASISTEN AL BANCO DE SANGRE DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO  
“ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ” CUMANÁ, ESTADO SUCRE

APROBADO POR:

---

Dra. Merlyn Vivenes  
Asesora

---

Dra. Raquel Salazar  
Jurado

---

Dra. Sonia Nusetti  
Jurado

## ÍNDICE

DEDICATORIA .....	i
AGRADECIMIENTOS .....	ii
LISTA DE TABLAS .....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE ABREVIATURAS .....	v
RESUMEN .....	vi
INTRODUCCIÓN .....	i
METODOLOGÍA .....	i
Muestra Poblacional.....	9
Toma de muestra.....	9
Extracción del ADN.....	10
Amplificación de ADN .....	11
Digestión con enzima de restricción .....	12
Determinación de los parámetros antropométricos.....	13
Determinación de los parámetros bioquímicos .....	13
Análisis estadístico.....	13
RESULTADOS .....	i
DISCUSIÓN .....	i
CONCLUSIONES .....	i
RECOMENDACIONES.....	i
BIBLIOGRAFÍA .....	i
ANEXOS .....	i
HOJA DE METADATOS .....	72

## **DEDICATORIA**

A

Mis padres por su esfuerzo, confianza y apoyo incondicional en todas las etapas de mi vida.

Mis hermanos Anneliese Prada por ser un ejemplo de constancia y perseverancia y Anibal José Prada por ser mi cómplice en las situaciones inesperadas. ¡Los amo!

Mis abuelas, tíos y demás familiares por sus palabras de aliento y motivación, en especial a mi tía Jacque por su apoyo constante e incondicional, por saber escucharme y orientarme en todo momento.

Crisanto Velásquez, mi abuelo y mi primo Daniel Brito, por las risas y alegrías brindadas durante su existencia y por ser mis confidentes espirituales.

## **AGRADECIMIENTOS**

A

Dios, por acompañarme, guiarme y ser mi amigo fiel en todo momento.

La profesora Merlyn Vívenes por su amistad, orientación y dedicación durante el curso de mi carrera y sobre todo en la realización de esta investigación.

Los profesores de la escuela de Bioanálisis de la Universidad de Oriente en especial a Olga Bianchi, Miguel Campos y Leonor Mora por el conocimiento y confianza brindada a lo largo de la carrera.

El personal del Banco de Sangre y del Laboratorio General del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, en especial a los licenciados Oswaldo Tovar, Juan Linares y las licenciadas Yilmaris, Aniuska Villegas, Patricia Cruces y Carmen Lemus, por su cooperación para la recolección y procesamiento de las muestras empleadas en este trabajo. De igual manera quiero agradecer al Servicio de Nutrición y Dietética de dicho centro, particularmente a la licenciada Ludmila Ramírez, por la ayuda brindada para las determinaciones de las medidas antropométricas.

El Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), por facilitarme el uso de sus instalaciones para la realización de este trabajo de investigación.

El personal del laboratorio de Genética Humana del IVIC, en especial al Dr. Álvaro Rodríguez y a la Dra. Dinorah Castro, por abrirme las puertas de este centro y permitirme la participación en su equipo de investigación. También, a la Dra. Irene Paradissi y la M.Sc. Greta Rodríguez por la estandarización de las técnicas empleadas en este trabajo y por su dedicación y orientación en la ejecución del mismo. De igual manera quiero agradecer a las licenciadas Yanireth, Vicky, Maytte, Mary Helen, Mireya, Cristina y Neida por su apoyo, tiempo y conocimientos brindados a lo largo de mi entrenamiento y al Sr. Luis José por su especial dedicación, palabras de aliento y motivación.

Mis amigos en especial a Eudys Campos, Jhonilys Navarro, Clemylse González y Oriana González por su amistad sincera y desinteresada, por los momentos alegres vividos y por hacer de los menos gratos, fáciles de llevar.

María Viña, la familia Campos Malavé y a la Sra. Elena Melchior por abrirme las puertas de su hogar y acogerme como un miembro más de su familia.

Darcys Márquett y Liomer Bermúdez por su amistad, orientación y ayuda en la realización de este trabajo.

## LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Clasificación, según el sexo, de individuos nacidos en el estado Sucre, evaluados durante el período de enero a marzo de 2010. ....	15
Tabla 2. Frecuencias alélicas de los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y <i>Xba</i> I intrón dos, ubicados en el gen que codifica para la Apo A-IV en los individuos del estado Sucre evaluados. ....	16
Tabla 3. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y <i>Xba</i> I intrón dos del gen APO A-IV, en individuos del estado Sucre que formaron parte de este estudio. ....	17
Tabla 4. Parámetros bioquímicos y antropométricos de la muestra en estudio clasificados, según el sexo. ....	18
Tabla 5. Parámetros bioquímicos y antropométricos según los genotipos del polimorfismo Tre347Ser, encontrados en los individuos del estado Sucre analizados. ..	18
Tabla 6. Parámetros bioquímicos y antropométricos clasificados de acuerdo a los genotipos del polimorfismo Gln360His encontrados en la muestra poblacional del estado Sucre analizada. ....	19
Tabla 7. Parámetros bioquímicos y antropométricos de acuerdo al genotipo del polimorfismo <i>Xba</i> I intrón dos en individuos nacidos en el estado Sucre. ....	19
Tabla 8. Factores de riesgo para padecer enfermedades crónicas no transmisibles, en individuos pertenecientes al estado Sucre que formaron parte de este estudio. ....	20

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gel de poliacrilamida al 8,00% donde se observa el polimorfismo Tre347Ser ubicado en el gen APO A-IV.....	21
Figura 2. Gel de poliacrilamida al 8,00% donde se observa el polimorfismo Gln360His ubicado en el gen APO A-IV.....	21
Figura 3. Gel de poliacrilamida al 8,00% donde se observa el sitio de restricción polimórfico Xba I ubicado en el intrón dos del gen APO A-IV.....	22

## LISTA DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxiribonucleico
$\text{Cu}^{2+}$	Cobre
HCl	Acido clorhídrico
KDa	Kilo daltons
KCl	Cloruro de potasio
mA	Miliampere
$\text{MgCl}_2$	Cloruro de magnesio
NaCl	Cloruro de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
Tris	Trisma
V	Voltaje

## RESUMEN

Se evaluaron las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y *Xba* I intrón dos, ubicados en el gen que codifica para la apolipoproteína A-IV; algunos parámetros bioquímicos (colesterol total, triglicéridos, HDL-c, LDL-c, VLDL-c y glicemia) y antropométricos (Índice de Masa Corporal e Índice Cintura Cadera) y su posible asociación con los genotipos encontrados para cada uno de los sistemas. La muestra estuvo conformada por 81 individuos que asistieron al banco de Sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, nacidos en el estado Sucre, no relacionados biológicamente y con padres y abuelos nacidos en la misma entidad. El 46,91% (n=38) de la muestra eran de sexo masculino y 53,09% (n=43) femenino, con edades comprendidas entre los 18 y 45 años. El análisis molecular se realizó empleando la técnica de PCR-RFLP. El polimorfismo Tre347Ser mostró frecuencias alélicas de 91,40% para el alelo Tre347 y 8,60% para Ser347; el genotipo más frecuente fue el homocigoto Tre/Tre (82,72%), seguido de los heterocigotos Tre/Ser (17,28%), no se encontraron homocigotos Ser/Ser. Las frecuencias alélicas de Gln360His fueron 95,00% Gln360 y 5,00% His360; las distribuciones genotípicas fueron 90,00% Gln/Gln, 10,00% Gln/His y ausencia de His/His. Con respecto a *Xba* I intrón dos, las frecuencias de alelo X\*1, caracterizado por la presencia del sitio de corte para la enzima *Xba* I fue mayor (91,40%) en comparación con la del alelo X\*2 (8,60%), que carece de la secuencia de reconocimiento para esta enzima; en este sistema el genotipo más común fue el X\*1/X\*1 (82,72%) y en menor proporción el X\*1/X\*2 (17,28%), no se encontraron homocigotos X\*2/X\*2. La población analizada mostró estar en equilibrio de Hardy-Weinberg. No se encontraron diferencias significativas entre los parámetros bioquímicos, antropométricos y los genotipos de cada uno de los polimorfismos estudiados. La información recopilada en las encuestas, señala que el 9,87% de los individuos presentan antecedentes familiares para el padecimiento de enfermedades metabólicas, 11,11% han fumado y un 8,64% consumen bebidas alcohólicas de manera semanal, además se encontró que el 35,80% no practican ninguna actividad física, por lo que el sedentarismo es predominante en este grupo. Con respecto a los hábitos nutricionales, se pudo observar que existe un aumento en la ingesta de grasas, desencadenando un desmejoramiento en el estado nutricional. Los datos obtenidos de la muestra estudiada constituyen un aporte al conocimiento de la variabilidad molecular de los individuos del estado Sucre y ponen de manifiesto factores genéticos y ambientales que pueden aumentar el riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles en este grupo poblacional.

## INTRODUCCIÓN

Las apolipoproteínas constituyen la parte proteica de compuestos macromoleculares que permiten el transporte de lípidos insolubles a través del plasma, facilitando su desplazamiento desde el intestino, donde se absorben de la dieta, o desde el hígado, donde se biosintetizan a partir de carbohidratos y ácidos grasos. Estos compuestos, conocidos como lipoproteínas, se encuentran estructuralmente conformados por un núcleo de lípidos apolares (colesterol esterificado y triglicéridos) cubiertos por una capa externa polar, que está formada por fosfolípidos, colesterol libre y apolipoproteínas (Anexo 1) (Canal y Gómez, 2003).

Las apolipoproteínas participan en la síntesis, secreción, procesamiento y catabolismo de las lipoproteínas, contribuyen a la estabilidad y solubilidad de los lípidos en medios acuosos, participan como ligandos para el receptor mediador de transporte y distribución de las partículas de lípidos en las membranas celulares y como cofactores de muchas enzimas que intervienen en el metabolismo lipídico (Humphries y cols., 1987; Davignon y cols., 1988).

En humanos, se han identificado varios tipos de apolipoproteínas, designadas de acuerdo con la nomenclatura alfabética, como Apo A-I, Apo A-II, Apo A-IV, Apo B, Apo C-I, Apo C-II y Apo C-III, además de otras designadas con las letras D hasta la H. Todas éstas, excepto las Apo G y Apo H, han sido bien caracterizadas con respecto a su estructura, propiedades bioquímicas, fisiológicas y a su localización cromosómica (Brown y Baginsky, 1972; Shore y Shore, 1973; Brewer y cols., 1978; Weisgraber y cols., 1978; Breslow, 1988).

El gen que codifica para la apolipoproteína A-IV, designado como APOA-IV, ha sido localizado en el brazo largo del cromosoma 11, contiene tres exones de nucleótidos,

respectivamente. Este gen se encuentra estrechamente vinculado y organizado con los loci de las apolipoproteínas A-I y C-III, formando el grupo de genes APO A-I/C-III/A-IV (Anexo 2) (Fisher y cols., 1999).

La Apo A-I conforma aproximadamente el 70% de las lipoproteínas de alta densidad (HDL, del inglés High Density Lipoproteins) y actúa como un cofactor de la enzima lecitina colesterol aciltransferasa (LCAT), para facilitar el transporte reverso del colesterol, mientras que la Apo C-III es un componente importante de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, del inglés Very Low Density Lipoproteins) y de los quilomicrones, y se ha planteado que juegan un papel importante en la captación hepática de partículas ricas en triglicéridos (Fielding y cols., 1972).

La Apo A-IV fue descrita por primera vez por Weisgraber y cols. (1978), como una glicoproteína que contiene 376 aminoácidos y una masa molar de 46 000 KDa; se sintetiza principalmente en los enterocitos del intestino delgado y se secreta a la circulación, a través del sistema linfático junto a los quilomicrones. Durante su paso al plasma y posterior al metabolismo de los quilomicrones, alrededor del 25% de las Apo A-IV se transfieren a las HDL y el 75% restante se encuentra libre de lipoproteínas. Diversas investigaciones, han reportado que la concentración plasmática de esta apolipoproteína en ayuno es de 13 a 19 mg/dl, sin embargo Zaiou y cols. (1994b) y Bisgaier y cols. (1985), reportaron que la concentración media de Apo A-IV en ayuno es de 23,5 y 37,4 mg/dl, respectivamente (Utermann y Beisiegel, 1979; Green y cols., 1980; Weinberg y Scanu, 1983; Lefevre y Roheim, 1984; Ghiselli y cols., 1986).

El papel fisiológico de la Apo A-IV aún no ha sido definido completamente; sin embargo, existen evidencias que sugieren que es un elemento importante en el metabolismo de los quilomicrones y de las HDL. Recientemente se ha demostrado

que tiene propiedades antiaterogénicas, debido a su actividad antioxidante y por su participación en el transporte reverso del colesterol. Por su similitud con la Apo A-I en la estructura de las hélices anfipáticas, se ha propuesto que participa en la activación de la enzima LCAT, la cual cataliza la esterificación del colesterol libre del plasma, a través de la transferencia de un grupo acilo del ácido graso que se encuentra en la posición *sn*-2 de la lecitina hacia el grupo 3 $\beta$ -OH del colesterol. Esta enzima es secretada por el hígado y circula, unida principalmente, a las HDL; su acción resulta determinante para la conversión de partículas de HDL inmaduras y de baja masa molecular en moléculas maduras y de mayor tamaño. La esterificación del colesterol presente en estas lipoproteínas permite que se mantenga un gradiente de colesterol libre entre los tejidos periféricos y las partículasceptoras. De esta manera, la enzima LCAT constituye un elemento esencial de la vía metabólica del transporte reverso del colesterol, que dirige el exceso de colesterol de las membranas plasmáticas hacia el hígado para su posterior eliminación (Glomset, 1968; Fielding y cols., 1972; Glomset y Norum, 1973; Basu y cols., 1982; Anantharamaiah y cols., 1990).

Las propiedades antioxidantes de la Apo A-IV, aun no han sido bien descritas, sin embargo, Wong y cols. (2007), plantean que el mecanismo por el cual la Apo A-IV puede proteger contra lesiones cardiovasculares, es debido a la formación de complejos quelantes entre la Apo A-IV e iones de Cu<sup>2+</sup>, los cuales inhiben la peroxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL, del inglés Low Density Lipoproteins). También se le ha atribuido a la Apo A-IV, la modulación de la actividad de la enzima lipasa lipoproteica (LPL), que es la encargada de la hidrólisis de los triglicéridos presentes en los quilomicrones y las VLDL. Por estas propiedades y por su participación en el metabolismo de los lípidos, es importante el estudio de las Apo A-IV, con el fin de esclarecer los mecanismos por los cuales estas apolipoproteínas conllevan a la disminución de los procesos ateroscleróticos (Duverger y cols., 1996; Cohen y cols., 1997; Fournier y cols., 2000; Ostos y cols.,

2001; Ferretti y cols., 2002).

Estudios de asociación con dietas específicas han proporcionado pruebas de que esta apolipoproteína puede estar implicada en la modulación de la ganancia de peso corporal. Por otra parte, investigaciones realizadas con polimorfismos genéticos han descrito que la variación molecular en los genes que codifican estas proteínas, influyen en las concentraciones de lípidos y de lipoproteínas en la población general y, por ende, también están involucradas en la susceptibilidad a padecer enfermedades cardiovasculares (Humphries y cols., 1987; Davignon y cols., 1988; Barter, 2002; Weinberg, 2002).

Existe una alta predisposición genética para padecer diferentes enfermedades metabólicas como la diabetes, el síndrome metabólico y distintas formas de dislipidemias como la hiperlipidemia familiar combinada (HLFC). Esta última es un trastorno genético determinado por un defecto en el metabolismo de las lipoproteínas, que se caracteriza por presentar niveles elevados de colesterol total, triglicéridos o ambos. Entre los genes de susceptibilidad más estudiados están aquellos involucrados en el metabolismo de lípidos, como el grupo que codifica para las apolipoproteínas A-I, Apo C-III y Apo A-IV, los genes de las enzimas lipasa hepática (LH) y LPL; además los de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP), de la enzima LCAT, del receptor  $1\beta$  del factor de necrosis tumoral (TNFRSF1B) y el gen del receptor de las LDL (LDLR), entre otros (Aouizerat y cols., 1999; Allayee y cols., 2000; Campagna y cols., 2002; Naoumova y cols., 2003; Mar y cols., 2004; Huertas, 2008).

Dentro de las variaciones más comunes que experimentan estos genes, están los denominados polimorfismos mononucleotídicos (SNP, del inglés Single-Nucleotide Polymorphism), originados por la sustitución de una sola base nitrogenada en la molécula de ADN, llegando a alcanzar frecuencias mayores al 1% en la población

general. En el grupo de genes APO A-I/C-III/A-IV, se han identificado varios polimorfismos de fragmentos de restricción de longitud variable (RFLP, del inglés Restriction Fragment Length Polymorphism). Estos son variaciones en la secuencia del ADN, que generan o suprimen un sitio de reconocimiento para una enzima de restricción particular. Su frecuencia varía en diferentes áreas geográficas representando, en muchos casos, una valiosa herramienta como marcador genético poblacional. Diversos estudios han mostrado asociación entre algunos de estos RFLP y alteraciones en el metabolismo lipídico, así como también un incremento del riesgo cardiovascular (Ordovas y cols., 1991; Paul-Hayase y cols., 1992; Tybjaerg-Hansen y cols., 1993; Silveria y cols., 2007).

La Apo A-IV es una apolipoproteína polimórfica, que ha mostrado diversas variantes de tipo SNP, siendo los más estudiados hasta el momento los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His, Gln230Lis y Asn127Ser. Basados en el patrón de migración, con el uso de técnicas de enfoque isoelectrico y de inmunotransferencia, se han descrito ocho isoformas de Apo A-IV designadas como Apo A-IV-0 hasta A-IV-7, en poblaciones de ascendencia europea y africana. Con la aplicación de técnicas de secuenciación de ADN se han descrito dos isoformas principales A-IV-1 (Gln360) y A-IV-2 (His360), las cuales resultan de la substitución de la base nitrogenada guanina por timina, que codifica para el aminoácido histidina en lugar de glutamina en la posición 360 de la proteína madura. La secuenciación de ADN ha puesto de manifiesto una variante de APO A-IV-1, producida por una sustitución de adenina por timina, que codifica para el aminoácido serina (Ser347) en lugar de treonina (Tre347) en la posición 347 de la proteína (Menzel y cols., 1982; Boerwinkle y cols., 1990; Lohse y cols., 1990; Menzel y cols., 1990; Lohse y cols., 1991; Tenkanen y cols., 1991).

El avance en las técnicas moleculares han permitido identificar isoformas menos frecuentes en el exón 3, incluidas Apo A-IV-0 con una inserción de cuatro

repeticiones de aminoácidos en la posición 361 y Apo A-IV-3 con la sustitución de una glutamina por una lisina en la posición 230. Además, se ha analizado otro polimorfismo localizado en el intrón dos del gen APO A-IV, donde está involucrado un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción *Xba* I, la presencia de esta variación genética genera un sitio de corte para esta enzima y define el alelo X\*1, mientras que la ausencia del mismo caracteriza al alelo X\*2 (Menzel y cols., 1982; Boerwinkle y cols., 1990; Lohse y cols., 1990; Menzel y cols., 1990).

El gen que codifica para la apolipoproteína A-IV ha sido poco estudiado, siendo la mayoría de los reportes referentes a poblaciones europeas. Fisher y cols. (1999), han analizado los polimorfismos Tre347Ser y Gln360His en varias regiones de Europa (Báltico, Reino Unido y la región media y sur de Europa), encontrando frecuencias de 13,60 a 22,80% para el alelo Ser347 y de 5 a 12,10% para His360. Estos polimorfismos también se han estudiado en otros continentes, como África y Asia, en donde las frecuencias reportadas son más bajas (0,00-12,00%) que el valor promedio descrito para poblaciones europeas (16,00-22,00% para Ser y 4,00-16,00% para His360) (Von Eckardstein y cols., 1992; Cendoroglo y cols., 2005; De Franca y cols., 2005).

En Europa se han reportado estudios de asociación entre los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y *Xba* I intrón dos y los niveles de lípidos en plasma, sin embargo, los resultados obtenidos no han sido concluyentes. En este sentido, Zaiou y cols. (1994a) evaluaron las frecuencias de estos polimorfismos y analizaron la influencia que ejercen simultáneamente sobre los lípidos plasmáticos. Por otra parte, en el continente americano, Fiegenbaum y cols. (2003), realizaron estudios de asociación con respecto a la obesidad. Análisis de esta naturaleza son muy valiosos, debido a que la obesidad se ha convertido en un problema de salud pública en muchos países y está considerada como un factor de riesgo para el desarrollo de síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares, no sólo en adultos, sino que también se

ha extendido a la población infantil (Oviedo y cols., 2006).

Por su alto impacto en la sociedad, se han empleado algunos parámetros antropométricos para facilitar el diagnóstico y clasificación de la obesidad; entre los más usados se encuentran el índice de masa corporal (IMC), el cual mide el contenido de grasa presente en los individuos y el índice cintura cadera (ICC), que es un indicador de la distribución de la grasa en el cuerpo. Varios estudios han demostrado la alta sensibilidad de la circunferencia abdominal para la detección de obesidad central. Además, se ha determinado que el tejido adiposo visceral está inversamente relacionado con las concentraciones plasmáticas de HDL-c, confiriéndole una elevada significación como factor de riesgo ateroesclerótico y metabólico (Berdasco y cols., 2002; Oviedo y cols., 2006; Albert y cols., 2008).

En Venezuela, la mayoría de las investigaciones con respecto a la obesidad se han realizado en la población infantil. Oviedo y cols. (2001), encontraron un sobrepeso de 7,60% en un grupo de niños (1 a 7 años), pertenecientes a la ciudad de Valencia. Mientras que, Ramírez y cols. (2004), observaron que en niños (6 a 13 años) del estado Mérida el sobrepeso alcanzó un 11,00% y la obesidad un 14,00%. No obstante, los estudios de asociación con genes candidatos son limitados. En un grupo de 46 individuos adultos nacidos en el estado Sucre, se ha analizado la posible asociación entre sobrepeso/obesidad y algunos polimorfismos en el gen de la leptina (LEP) y del receptor de las LDL (LDLR), sin embargo, aún no existen reportes en relación a variantes genéticas ubicadas en el gen APO A-IV en el país (Rodríguez-Arroyo y cols., 2006; Rodríguez-Arroyo y cols., 2008).

Debido al alto índice de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), como obesidad, diabetes, dislipidemias, hipertensión entre otras; y al papel que desempeña el componente genético en el desarrollo de las mismas, resulta interesante la determinación de las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos

Tre347Ser, Gln360His y *Xba* I intrón dos del gen APO A-IV, en los individuos del estado Sucre; así como también la posible asociación de estas variantes moleculares con los parámetros bioquímicos: colesterol total, triglicéridos, LDL-c, HDL-c, VLDL-c y glicemia. Además de su posible asociación con las medidas antropométricas IMC e ICC. Todo esto, con el propósito de aumentar el conocimiento en relación al acervo genético de la población venezolana, lo que permitirá, a futuro, tener una mayor comprensión de los mecanismos que llevan a la variación de los niveles de lípidos plasmáticos en los individuos de esta zona del país, y poder reducir el riesgo de eventos cardiovasculares, mediante el mejoramiento de los hábitos alimenticios y tratamiento farmacológico adecuado.

## **METODOLOGÍA**

### **Muestra Poblacional**

La muestra objeto de este estudio estuvo constituida por 81 individuos que asistieron al Banco de Sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” durante los meses de enero a marzo de 2010 (tres meses), con edades comprendidas entre 18 y 45 años, nacidos en el estado Sucre, no relacionados biológicamente y con padres y abuelos nacidos en la misma entidad. A cada individuo se le informó sobre el proyecto de investigación. De forma voluntaria los participantes firmaron un consentimiento válido (Anexo 3), diseñado siguiendo las normas de bioética asentadas en la declaración de Helsinki para la investigación en grupos humanos, la cual establece que a cada persona se le debe informar todo lo referente a la toma de muestra, análisis de las mismas, objetivo del estudio, beneficios, confidencialidad y discreción de la investigación (Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, 2004). Seguidamente, se les realizó un cuestionario que proporcionó información acerca de sus datos personales, antecedentes familiares, historia clínica y estilo de vida (Anexo 4). Posteriormente, con la colaboración de personal especializado, a cada individuo se le realizaron medidas antropométricas (talla, peso y circunferencia cintura y cadera) en el Servicio de Nutrición y Dietética del mismo hospital.

### **Toma de muestra**

Después de un ayuno de 12 a 14 horas, a cada individuo se le extrajeron 10,00 ml de sangre, por punción venosa y se distribuyeron de la siguiente manera: 5,00 ml de sangre en tubos sin anticoagulante, para la determinación del perfil lipídico y glicemia, y 5,00 ml en tubos con anticoagulante ácido etilendiaminotetraacético

tetrasódico (EDTA) al 15,00% para la extracción, amplificación y digestión enzimática del fragmento de ADN a estudiar.

### **Extracción del ADN**

Para la obtención del material genético, se utilizaron los 5,00 ml de sangre completa, a los cuales se les agregaron 5,00 ml del reactivo TKM1 (Tris/HCl, 10,00 mmol l<sup>-1</sup>; KCl, 10,00 mmol l<sup>-1</sup>; MgCl<sub>2</sub>, 10,00 mmol l<sup>-1</sup>; EDTA, 2,00 mmol l<sup>-1</sup>; pH 7,60) y 150,00 µl de Nonidet P-40. Seguidamente, se agitó y centrifugó a 800 g durante 15 minutos y se descartó el sobrenadante.

El precipitado se lavó con 5,00 ml de TKM1; luego se resuspendió con 800,00 µl de reactivo TKM2 (Tris/HCl, 10,00 mmol l<sup>-1</sup>; KCl, 10,00 mmol l<sup>-1</sup>; MgCl<sub>2</sub>, 10,00 mmol l<sup>-1</sup>; EDTA, 2,00 mmol l<sup>-1</sup>; NaOH, 0,40 mol l<sup>-1</sup>; pH 7,60), se mezcló fuertemente y se transfirió el precipitado a un vial Eppendorf de 1,50 ml de capacidad, que contenía 55,00 µl de sodio dodecil sulfato (SDS) al 10,00%. Seguidamente, se incubó a 65°C por 10 minutos en baño de María y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Para la precipitación de las proteínas se adicionaron 300,00 µl de NaCl 3,50 mol l<sup>-1</sup> a temperatura ambiente y se agitó fuertemente. Posteriormente, se centrifugó a 7 000 g por 5 minutos a temperatura ambiente, el sobrenadante se transfirió a dos tubos que contenían alcohol absoluto frío (8°C) y se mezcló suavemente por inversión hasta la aparición de la malla de ADN. Esta malla, se colocó en un vial con 1,00 ml de etanol 70,00%, luego se guardó en la nevera a 8°C hasta el momento de su análisis.

Al momento de utilizar el ADN, la muestra se centrifugó en una microcentrifuga a 7 000 g por 5 minutos a temperatura ambiente, se eliminó el etanol, se dejó secar completamente y se resuspendió en 0,30 ml de amortiguador (tris/HCl, 10,00 mmol l<sup>-1</sup> con EDTA, 1,00 mmol l<sup>-1</sup>, pH 8,00). Posteriormente, se colocó en el baño de María a

65°C por 10 minutos para disolver el ADN (Lahari y Nurnberger, 1991).

### **Amplificación de ADN**

Se utilizó la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, del inglés Polymerase Chain Reaction), empleando el método descrito por Saiki y cols. (1988) con adaptaciones para un volumen de 15,00 µl. Para el análisis de los polimorfismos Tre347Ser y Gln360His, ubicados en el exón tres; se diseñaron los oligómeros mediante la utilización de los programas Primer tres y DNAMAN, y su fabricación estuvo a cargo de la casa comercial Qiagen Operon Technologies, Inc. El análisis del sitio polimórfico definido por la enzima de restricción *Xba* I, ubicado en el intrón dos, se realizó siguiendo el protocolo descritos por Zaiou y cols. (1994a) (Anexo 5).

La mezcla de amplificación para los polimorfismos Tre347Ser y Gln360His se preparó agregando 4,20 µl de la mezcla de trabajo, 4,00 µl de cada uno de los oligómeros ( $\text{mmol l}^{-1}$ ), 1,73 µl de agua bidestilada estéril, 0,07 µl de Taq ADN polimerasa (5,00 U/ µl) y por último 1,00 µl de ADN (100,00-300,00 µg/µl). Se utilizó un termociclador marca MJ Research, modelo PT-100 y se sometieron las muestras a las siguientes condiciones de amplificación: etapa inicial a 94°C por 6 minutos; desnaturalización a 94°C por 1 minuto; hibridación a 58°C por 45 segundos; extensión a 72°C por 1 minuto, 30 segundos; se repitieron los pasos del dos al cuatro por 30 ciclos y una etapa final a 23°C por 5 minutos.

Para observar el producto amplificado, se realizó una electroforesis en gel de poliacrilamida al 8,00%, con un amortiguador Tris-EDTA a pH 8,10 empleando una cámara de electroforesis Sigma Chemical CO, modelo 235, 280-2. Se realizó una corrida inicial por un tiempo de 10 minutos aproximadamente, luego se colocaron las muestras en los pozos del gel y se realizó la corrida electroforética a un voltaje de 200 V y 20 mA por 2 horas. Finalizada la corrida, el gel se coloreó con nitrato de plata al

0,30% y se reveló con hidróxido de sodio al 1,50% y formaldehído al 0,40% para su observación (Jung y cols., 1998).

La mezcla de amplificación para *Xba* I intrón dos, se preparó agregando 4,20  $\mu$ l de la mezcla de trabajo, 2,00  $\mu$ l de cada uno de los oligómeros ( $\text{mmol l}^{-1}$ ), 4,72  $\mu$ l de agua bidestilada estéril, 0,08  $\mu$ l de Taq ADN polimerasa (5,00 U/  $\mu$ l) y por último 2,00  $\mu$ l de ADN (100,00-300,00  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ). Las muestras fueron sometidas a las siguientes condiciones de amplificación: etapa inicial a 94°C por 6 minutos; desnaturalización a 94°C por 30 segundos; hibridación a 52°C por 30 segundos; extensión a 72°C por 30 segundos; se repitieron los pasos del dos al cuatro por 32 ciclos y una etapa final a 23°C por 5 minutos. Para observar el producto amplificado, se realizó una electroforesis, tinción y revelado del gel siguiendo el procedimiento descrito anteriormente.

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

Los productos de PCR fueron sometidos a digestión, utilizando las enzimas de restricción *Hinf* I, *Fnu*4H I y *Xba* I, para los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y *Xba* I intrón dos, respectivamente (Anexo 6). Estas enzimas reconocen y cortan las siguientes secuencias de nucleótidos:

- *Hinf* I: 5'-G↓ANTC-3' (3'-CTNA↑G-5').
- *Fnu*4H I: 5'-GC↑NGC-3' (3'-CGN↓CG-5').
- *Xba* I: 5'-T↓CTAGA-3' (3'-AGATC↑T-5').

Los protocolos empleados en cada caso fueron descritos por la casa comercial New England.

El producto de la digestión, fue observado realizando una electroforesis en gel de poliacrilamida al 8,00%, siguiendo los mismos pasos descritos para observar el producto amplificado (Jung y cols., 1998).

### **Determinación de los parámetros antropométricos**

Los parámetros antropométricos fueron medidos en el Servicio de Nutrición y Dietética del HUAPA, con la colaboración del personal entrenado para tal fin. Se determinaron el peso actual (P), talla (T), circunferencia cintura (C.CIN) y circunferencia cadera (C.CAD), y finalmente, se calculó el IMC e ICC, siguiendo procedimientos descritos por Weiner y Lourie, 1969.

### **Determinación de los parámetros bioquímicos**

Se cuantificaron las concentraciones séricas de glucosa, colesterol total (CT), triglicéridos y HDL-colesterol (HDL-c), utilizando un analizador Olympus modelo AU 640 automatizado, y los reactivos de la casa comercial Olympus (Nelson 1944; Trinder, 1974; Bauer, 1986; Olympus Diagnóstica, 2004a, 2004b; 2004c; 2004d). Los valores de LDL-colesterol (LDL-c) y VLDL-colesterol (VLDL-c) fueron reportados por el equipo analizador (Trinder, 1974; Bernard, 1993).

### **Análisis estadístico**

Se estimaron las frecuencias alélicas de los sistemas en estudio por contaje directo. Se analizó el ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg a partir de las frecuencias

genotípicas, realizando la prueba de chi-cuadrado con el programa MAXLIK. Se empleó la prueba t de student para comparar los promedios de los parámetros bioquímicos y antropométricos por sexo. Además, se aplicó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) para establecer las posibles asociaciones entre estos parámetros y los polimorfismos analizados (Reed y Schull, 1968; Sokal y Rohlf, 1981).

## RESULTADOS

La tabla 1 muestra la clasificación de los individuos analizados de acuerdo al sexo. El estudio quedó conformado por 81 individuos, aparentemente sanos de los cuales el 46,91% (n=38) eran de sexo masculino y 53,09% (n=43) femenino, con edades comprendidas entre los 18 y 45 años, nacidos en el estado Sucre, con padres y abuelos también autóctonos de la misma entidad. Estos criterios de selección permiten conservar la homogeneidad genética y disminuir la variabilidad introducida por movimientos migratorios recientes.

Tabla 1. Clasificación, según el sexo, de individuos nacidos en el estado Sucre, evaluados durante el período de enero a marzo de 2010.

Sexo	n	Porcentaje (%)
Masculino	38	46,91
Femenino	43	53,09
Total	81	100,00

En la tabla 2 se muestran las frecuencias alélicas de cada uno de los polimorfismos del gen de APO A-IV observadas en los individuos analizados. Para Tre347Ser la frecuencia del alelo Ser347 en los individuos sucrenses fue menor (8,60%) comparada con las señaladas en investigaciones previas en poblaciones de diferentes continentes (13,60-22,80%), a excepción de Asia, donde está ausente en algunas localidades. En el caso de Gln360His, la frecuencia obtenida para His360 (5,00%) se encontró dentro del rango establecido para individuos europeos (4,00-16,00%) y del continente americano (2,80-9,48%). Con respecto al sitio de restricción polimórfico *Xba* I intrón dos, en este estudio, se obtuvieron frecuencias mayores para el alelo X\*1 (91,40%), mientras que las reportadas para X\*2 (8,60%) fueron mucho más bajas que

las descritas en países como Bélgica, Francia y Brasil (16,00-21,00%); no obstante, es importante destacar que sólo existen tres reportes disponibles de este sitio polimórfico, considerando un enfoque poblacional. Los alelos más frecuentes observados en el presente estudio para los tres polimorfismos evaluados, son también los más predominantes en la mayoría de las poblaciones analizadas a escala mundial.

Tabla 2. Frecuencias alélicas de los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y *Xba* I intrón dos, ubicados en el gen que codifica para la Apo A-IV en los individuos del estado Sucre evaluados.

Polimorfismo	n	Frecuencia (%)
<b>Tre347Ser</b>		
Tre	148	91,40
Ser	14	8,60
Total	162	100,00
<b>Gln360His</b>		
Gln	152	95,00
His	8	5,00
Total	160	100,00
<b><i>Xba</i> I intrón dos</b>		
X*1	148	91,40
X*2	14	8,60
Total	162	100,00

En la tabla 3 se reportan las frecuencias genotípicas de cada uno de los polimorfismos de APO A-IV observadas en los individuos estudiados. Para Tre347Ser el genotipo más común fue Tre/Tre (82,72%) y en menor proporción el Tre/Ser (17,28%). Con respecto a Gln360His se reportaron valores mayores para Gln/Gln (90,00%), comparado con Gln/His (10,00%); en tanto que, para el sitio de restricción polimórfico *Xba* I intrón dos, X\*1/X\*1 (82,72%) mostró mayor valor que X\*1/X\*2 (17,28%). La baja frecuencia de los alelos Ser347, His360 y X\*2 señaladas en este

estudio comprometen las proporciones genotípicas de los heterocigotos y homocigotos Ser/Ser, His/His y X\*2/X\*2, los cuales mostraron ausencia total.

Tabla 3. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y Xba I intrón dos del gen APO A-IV, en individuos del estado Sucre que formaron parte de este estudio.

Genotipos	n	Frecuencia (%)
<b>Tre347Ser</b>		
Tre/Tre	67	82,72
Tre/Ser	14	17,28
Ser/Ser	0	0,00
<b>Total</b>	<b>81</b>	<b>100,00</b>
<b>Gln360His</b>		
Gln/Gln	72	90,00
Gln/His	8	10,00
His/His	0	0,00
<b>Total</b>	<b>80</b>	<b>100,00</b>
<b>Xba I intrón dos</b>		
X1*/X*1	67	82,72
X*1/X*2	14	17,80
X*2/X*2	0	0,00
<b>Total</b>	<b>81</b>	<b>100,00</b>

La tabla 4 muestra los parámetros bioquímicos y antropométricos de la población en estudio. No se observaron diferencias significativas en el índice de masa corporal (IMC), en las concentraciones plasmáticas de colesterol total (CT), LDL-c, HDL-c, VLDL-c, triglicéridos y glicemia entre hombres y mujeres. Las diferencias observadas por género en el índice cintura cadera (ICC), no mostraron relevancia en este estudio, en ambos sexos se encontraron dentro del intervalo de referencia

establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1995).

Tabla 4. Parámetros bioquímicos y antropométricos de la muestra en estudio clasificados, según el sexo.

Variables	Mujeres ( $\bar{x} \pm DE$ )	Hombres ( $\bar{x} \pm DE$ )
Glicemia	88,37 $\pm$ 17,68	92,13 $\pm$ 9,91
Triglicéridos	98,12 $\pm$ 48,83	110,95 $\pm$ 54,37
Colesterol total	168,84 $\pm$ 33,40	169,42 $\pm$ 33,11
HDL-c	42,98 $\pm$ 9,08	39,84 $\pm$ 8,01
LDL-c	106,84 $\pm$ 32,83	107,34 $\pm$ 30,96
VLDL-c	19,51 $\pm$ 9,79	22,24 $\pm$ 10,90
IMC	27,37 $\pm$ 5,98	25,83 $\pm$ 2,48
ICC	0,86 $\pm$ 0,07	0,93 $\pm$ 0,05

En las tablas 5, 6 y 7 se describen los valores medios de los parámetros bioquímicos y antropométricos clasificados según los genotipos de cada uno de los polimorfismos del gen APO A-IV analizados, observándose que no existen diferencias significativas entre las variables estudiadas y los distintos genotipos encontrados en esta población. Sin embargo, la ausencia de Ser/Ser, His/His y X\*2/X\*2, dificulta el análisis comparativo entre los homocigotos de cada uno de los polimorfismos.

Tabla 5. Parámetros bioquímicos y antropométricos según los genotipos del polimorfismo Tre347Ser, encontrados en los individuos del estado Sucre analizados.

Variables	Tre/Tre	Tre/Ser	p
n	67	14	
Colesterol total (mg/dl)	169,88 $\pm$ 33,22	165,42 $\pm$ 43,63	0,66
HDL-c (mg/dl)	41,17 $\pm$ 8,34	43,07 $\pm$ 10,36	0,46
LDL-c (mg/dl)	108,18 $\pm$ 31,39	101,79 $\pm$ 34,25	0,49
VLDL-c (mg/dl)	20,84 $\pm$ 10,33	20,57 $\pm$ 10,83	0,93
Triglicéridos (mg/dl)	104,34 $\pm$ 51,44	103,14 $\pm$ 54,21	0,93
Glicemia (mg/dl)	89,92 $\pm$ 15,27	91,14 $\pm$ 11,24	0,77
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26,82 $\pm$ 4,88	25,82 $\pm$ 3,87	0,48
ICC	0,89 $\pm$ 0,06	0,91 $\pm$ 0,07	0,50

p $\geq$ 0,05 NS: no significativo.

Tabla 6. Parámetros bioquímicos y antropométricos clasificados de acuerdo a los genotipos del polimorfismo Gln360His encontrados en la muestra poblacional del estado Sucre analizada.

Variables	Gln/Gln	Gln/His	p
n	72	8	
Colesterol total (mg/dl)	168,81 ± 33,44	179,38 ± 44,69	0,41
HDL-c (mg/dl)	41,90 ± 8,90	38,75 ± 6,49	0,33
LDL-c (mg/dl)	106,45 ± 29,47	117,75 ± 48,48	0,34
VLDL-c (mg/dl)	20,74 ± 10,43	22,88 ± 9,58	0,58
Triglicéridos (mg/dl)	103,65 ± 52,12	116,50 ± 45,85	0,51
Glicemia (mg/dl)	90,16 ± 14,80	90,50 ± 14,54	0,95
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26,87 ± 4,88	24,38 ± 2,17	0,29
ICC	0,89 ± 0,07	0,88 ± 0,06	0,47

p≥0,05 NS: no significativo.

Tabla 7. Parámetros bioquímicos y antropométricos de acuerdo al genotipo del polimorfismo *Xba* I intrón dos en individuos nacidos en el estado Sucre.

Variables	X*1/X*1	X*1/X*2	p
n	67	14	
Colesterol total (mg/dl)	169,00 ± 34,09	169,64 ± 40,27	0,95
HDL-c (mg/dl)	41,21 ± 8,32	42,93 ± 10,45	0,50
LDL-c (mg/dl)	107,63 ± 32,01	104,43 ± 31,60	0,73
VLDL-c (mg/dl)	20,42 ± 10,10	22,29 ± 11,74	0,55
Triglicéridos (mg/dl)	102,55 ± 50,38	111,71 ± 58,40	0,54
Glicemia (mg/dl)	90,16 ± 15,60	90,00 ± 8,72	0,96
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26,80 ± 4,88	25,91 ± 3,85	0,52
ICC	0,89 ± 0,06	0,90 ± 0,07	0,68

p≥0,05 NS: no significativo.

La tabla 8 muestra los resultados obtenidos de las encuestas realizadas a los individuos analizados, en relación a algunos factores de riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT). Los datos encontrados señalan que un gran porcentaje (88,89%) no ha fumado nunca, el 54,32% reportaron ser consumidores de bebidas alcohólicas y 35,90% afirmaron ser sedentarios. Con respecto a los

antecedentes familiares, 9,87% de la muestra estudiada presenta antecedentes para desarrollar algunas de estas patologías.

Tabla 8. Factores de riesgo para padecer enfermedades crónicas no trasmisibles, en individuos pertenecientes al estado Sucre que formaron parte de este estudio.

	n	%
<b>HÁBITO DE FUMAR</b>		
Nunca ha fumado	72	88,89
Ex fumador	5	6,17
Fumador	4	4,94
<b>Total</b>	<b>81</b>	<b>100,00</b>
<b>CONSUMO DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS</b>		
Nunca	18	22,22
Ocasional	37	45,68
Tres veces por mes	19	23,46
Tres veces por semana	7	8,64
<b>Total</b>	<b>81</b>	<b>100,00</b>
<b>ACTIVIDAD FÍSICA</b>		
Sedentarismo	29	35,80
Actividad moderada	28	34,57
Actividad frecuente/deportista	24	29,63
<b>Total</b>	<b>81</b>	<b>100,00</b>
<b>ANTECEDENTES FAMILIARES</b>		
Ausencia	73	90,12
HTA	4	4,94
Diabetes	2	2,47
HTA-Hcol	1	1,23
HTA-Hcol-Htg-ECV-Diabetes	1	1,23
<b>Total</b>	<b>81</b>	<b>100,00</b>

HTA: hipertensión arterial. Hcol: hipercolesterolemia. Htg: hipertrigliceridemia. ECV: enfermedad cardiovascular.

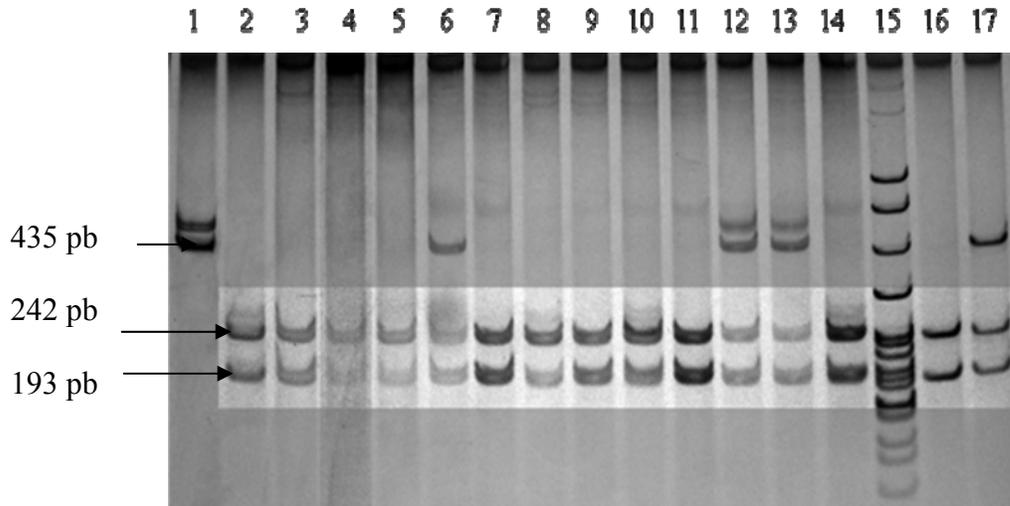


Figura 1. Gel de poliacrilamida al 8,00% donde se observa el polimorfismo Tre347Ser ubicado en el gen APO A-IV.

En el pozo 1 se señala la muestra sin digerir. En el carril 2-5, 7-11, 14 y 16 se muestran los homocigotos Tre/Tre y en el 6, 12, 13 y 17 los heterocigotos Tre/Ser. En el pozo 15 se observa el patrón de peso molecular (ADN del plásmido pBR 322 digerido con la enzima de restricción Msp).

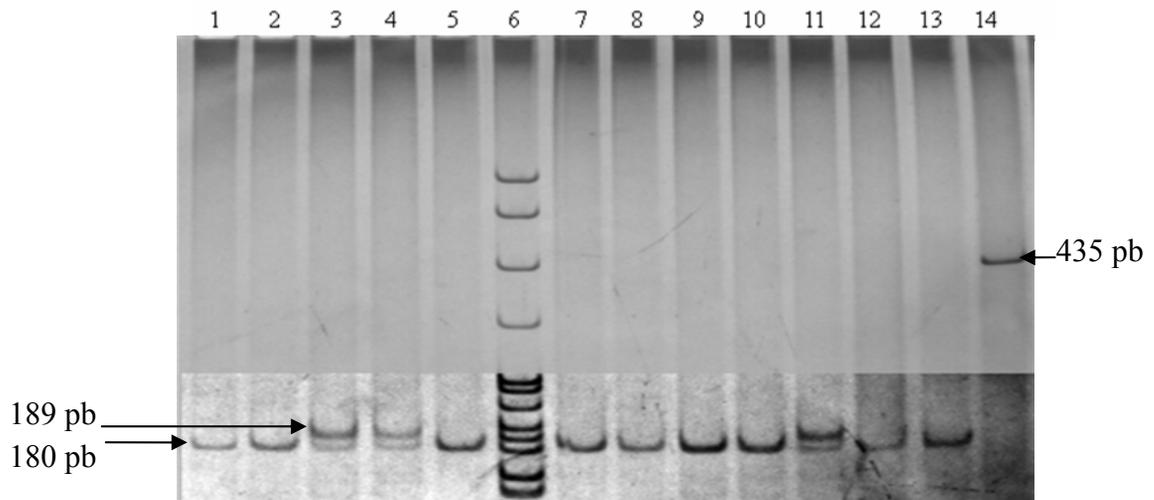


Figura 2. Gel de poliacrilamida al 8,00% donde se observa el polimorfismo Gln360His ubicado en el gen APO A-IV.

En los pozos 1, 2, 5, 7-10, 12 y 13 se muestran los homocigotos Gln/Gln. En los pozos 3, 4 y 11 se observan los heterocigotos Gln/His. En el pozo 6, se encuentra el patrón de peso molecular y en el carril 14 se señala la muestra sin digerir.

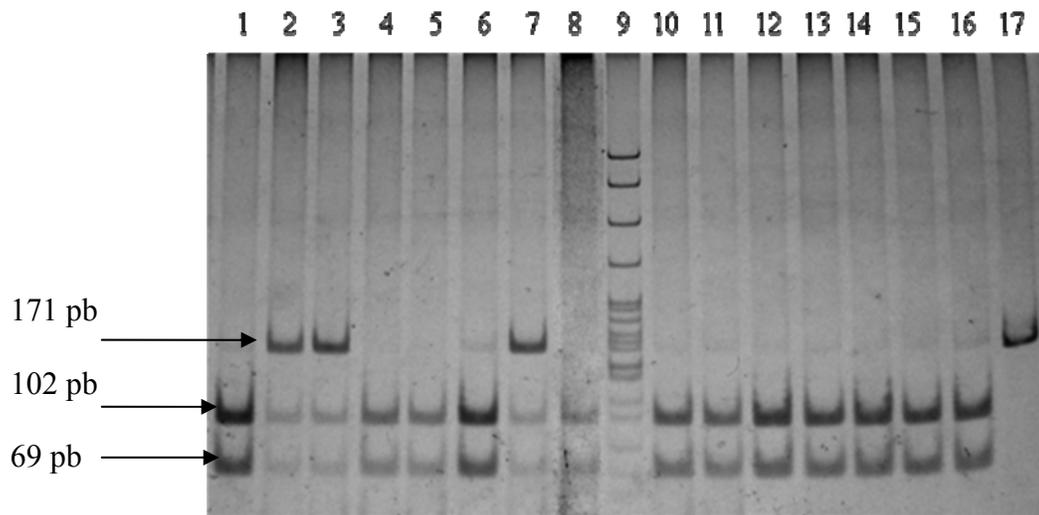


Figura 3. Gel de poliacrilamida al 8,00% donde se observa el sitio de restricción polimórfico Xba I ubicado en el intrón dos del gen APO A-IV. En los pozos 1, 4-8, 10-16 se observan los homocigotos X\*1/X\*1, y en el 2, 3 y 7 se encuentran los heterocigotos X\*1/X\*2. En el pozo 9 se muestra el patrón de peso molecular y en el carril 17 se señala la muestra sin digerir.

## DISCUSIÓN

Algunas alteraciones moleculares dentro del grupo de genes APO A-I/C-III/A-IV pueden producir defectos en el transporte del colesterol, triglicéridos y fosfolípidos en plasma, aumentando la susceptibilidad para el desarrollo de enfermedades complejas como la obesidad, que puede generar otras complicaciones metabólicas y cardiovasculares (Williams, 1984; Paulweber y cols., 1988; Wang y cols., 2003).

El conocimiento de la distribución de polimorfismos asociados con el transporte de lípidos a escala poblacional contribuye al mejor entendimiento de los mecanismos de interacción entre factores de riesgo genéticos y ambientales particulares de cada localidad. El presente estudio constituye el primer reporte sobre la estructura genética en relación a los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y *Xba* I intrón dos en el estado Sucre. Los resultados obtenidos señalan que Ser347 presenta para los individuos del estado Sucre analizados, una de las frecuencias más bajas (8,60%), reportadas hasta el momento, exceptuando Japón y China donde este alelo está ausente (Bai y cols., 1996; Bai y cols., 2008).

La mayoría de los reportes referentes al polimorfismo Tre347Ser, se han realizado en poblaciones europeas, encontrándose frecuencias más elevadas para el alelo Ser347 que las obtenidas en este estudio (8,60%). En países de la región media de Europa, tales como Bélgica, Dinamarca, Alemania y Suiza, el valor obtenido fue de 22,80%, similar al porcentaje descrito para países ubicados al sur como Grecia, Italia, Portugal y España (22,30%) (Fisher y cols., 1999). De igual manera, se asemejan a los encontrados en Finlandia (21,00%) por Tenkanen y Ehnholm (1992) y a los reportes del Reino Unido (21,00 y 21,50%) según Fishery cols. (1999) y Wong y cols. (2004) respectivamente. En España, Jansen y cols. (1997), señalan un 21,50% para Córdoba; sin embargo, Ostos y cols. (1998), observaron valores más bajos (16,00%) en la

misma ciudad, siendo este último similar al descrito por Carmena-Ramón y cols. (1998), en Valencia (15,87%). Por otra parte, en Francia, Zaiou y cols. (1994a) obtuvieron un 22,00% en individuos pertenecientes a la ciudad de Nancy, mientras que, Dallongeville y cols. (2005), describen frecuencias un poco más bajas para tres regiones diferentes, tales como el departamento de Haute-Garonne (19,98%), el departamento de Bas-Rhin (19,83%) y la ciudad de Lille (18,06%). Una distribución relativamente más baja de Ser347 (13,60%), en el continente europeo, ha sido reportada en los países Bálticos (Estonia y Finlandia) por Fisher y cols. (1999).

No es posible establecer comparaciones con países africanos, debido a que no existe información al respecto, mientras que en el continente asiático se han reportado bajas proporciones en la India (12,00%) y ausencia de Ser347 en Japón y China (Bai y cols., 1996; Saha y cols., 1997; Bai y cols., 2008) (Anexo 7). Estos hallazgos permiten deducir que el alelo Ser347 no presenta un patrón geográfico particular, sin embargo, sus valores para el continente europeo se mantienen en un rango más homogéneo, exceptuando los países Bálticos.

En el continente americano, sólo existen reportes de la distribución alélica de Ser347, en Estados Unidos y Brasil. Al respecto, Boerwinkle y cols. (1990), encontraron valores en Houston Texas (21,60%), semejantes a los descritos para países europeos, mientras que Hisxon y Power (1991), observaron frecuencias más bajas en San Antonio Texas (14,40%). En Brasil, Fiegenbaum y Hutz, (2003), reportaron proporciones mayores para Ser347 en Rio Grande del Sur (17,00%) en comparación a las descritas por De Franca y cols. (2005), en niños de 5 a 15 años pertenecientes al estado de Pernambuco (14,10%). Estos datos, sugieren que la distribución de Ser347 en este continente es variable, inclusive dentro de un mismo país. Sin embargo, los escasos reportes dificultan este tipo de comparaciones; particularmente en Brasil, donde los estudios se han realizado en grupos de diferentes edades. En este sentido, De Franca y cols. (2005), señalan que los niños se han expuesto mucho menos a

factores ambientales que los adultos, ofreciendo menos oportunidades para la interacción entre estos polimorfismos y el medio ambiente.

El polimorfismo Tre347Ser en individuos del estado Sucre mostró valores mayores para el homocigoto Tre/Tre (82,72%; n=67), en comparación con el heterocigoto Tre/Ser (17,28%; n=14), con ausencia de Ser/Ser, lo cual es compatible con la baja frecuencia del alelo Ser347 en este grupo poblacional. Se encontró concordancia entre las proporciones genotípicas observadas y las esperadas de acuerdo a la distribución alélica encontrada, lo que corrobora que la población analizada se encuentra en equilibrio según el teorema de Hardy-Weinberg, el cual establece que la composición genética de una población permanece en equilibrio mientras se cumplan los siguientes postulados: la población deber ser infinitamente grande, la segregación de los genes acontece de acuerdo a las leyes de Mendel, los apareamientos ocurren al azar, no debe ocurrir el aporte de alelos nuevos como consecuencia de mutaciones, inmigración/emigración o selección natural, además todos los individuos deben tener en promedio igual número de descendientes (Crow, 1999).

El alelo Tre347 predomina en todas las poblaciones analizadas por lo que las frecuencias genotípicas de Tre/Tre, alcanzan proporciones entre 59,00 y 72,00%, en el continente europeo, mostrando la mayor distribución en Córdoba, España (72,00%). El heterocigoto Tre/Ser se encuentra en un rango de 24,00 a 37,00%, mientras que el homocigoto Ser/Ser se mantienen por debajo del 5,00%. En el continente asiático, específicamente en la India, Saha y cols. (1997) observaron proporciones genotípicas de 77,80% para Tre/Tre, 19,90% para Tre/Ser y 2,30% para Ser/Ser. De manera similar, De Franca y cols. (2005) describen en niños del estado de Pernambuco Brasil, un 74,60% para Tre/Tre, 22,60% para Tre/Ser y 2,80% para Ser/Ser; sin embargo, Levefre y cols. (2000) reportaron 66,60% para Tre/Tre, 30,20% para Tre/Ser y 3,30% para Ser/Ser en individuos de Louisiana EE.UU (Anexo 8). Es

importante señalar que las frecuencias de Tre/Tre (82,72%) en el estado Sucre es la más alta reportada hasta el momento.

Las distribuciones alélicas de Gln360His obtenidas en este estudio fueron mayores para Gln360 (95,00%) que para His360 (5,00%). Estos valores son similares a los señalados previamente en poblaciones caucásicas. La frecuencia del alelo His360 encontrada en la presente investigación es igual a la observada por Fisher y cols. (1999) (5,00%), en individuos del sur de Europa provenientes de Grecia, Italia, Portugal y España; sin embargo, Ehnholm y cols. (1994) en otro grupo también de la región sur (Francia, España e Italia) reportaron valores más elevados (10,50%). Asimismo, la proporción de His360 en el estado Sucre es semejante a la de la población de Finlandia, donde Lukka y cols. (1988) señalan un 5,80%; mientras que, Ehnholm y cols. (1994) encontraron 4,90%. De igual manera, son comparables con las obtenidas por Fisher y cols. (1999), en países de la región media de Europa (Bélgica, Dinamarca, Alemania y Suiza) (5,80%), y por Miltiadous y cols. (2002) en Grecia (4,00%).

No obstante, el valor de His360 en el estado Sucre (5,00%) es más bajo comparado con los observados por Ehnholm y cols. (1994) en Gran Bretaña, y en países de la región media (Bélgica, Suiza y Austria) (7,00%), así como en el norte de Europa (Suecia, Dinamarca y Alemania) (8,60%); además es más bajo que los reportados por Menzel y cols. (1988) en Austria (7,70%), por De Knijff y cols. (1988) en Holanda y por Fisher y cols. (1999) en países Bálticos (7,90%) y el Reino Unido (12,10%). Otros autores también señalan frecuencias más elevadas que las de los individuos sucrenses en países como Francia (8,00%), Islandia (11,70%), Valencia (11,94%) y Córdoba España (Anexo 9) (Menzel y cols., 1988; Zaiou y cols., 1994a; Carmena-Ramón y cols., 1998; Ostos y cols., 2000). Al igual que Ser347 el alelo His360 no parece presentar un patrón geográfico particular; no obstante, Ehnholm y cols. (1994) señalan que los valores de His360 aumentan del norte al sur de Europa, mientras que

Fisher y cols. (1999) alegan que la tendencia al incremento va desde el sur hasta el norte de ese continente.

El alelo His360 es variable a escala mundial, mostrando en los países asiáticos proporciones más bajas con valores de 2,80% en la India, mientras que en Japón y China este alelo está ausente. En el continente africano también se han reportado frecuencias más bajas que las observadas en el presente estudio, tal es el caso de Nigeria que presentó un 3,00% según lo describen Sepehrnia y cols. (1988). Sin embargo, en el continente oceánico se encontró un 8,30% en Australia, mientras que en Nueva Guinea este alelo está ausente (Bai y cols., 1996; Saha y cols., 1997; Heilbronn y cols., 2000; Bai y cols., 2008).

En el continente americano, los análisis con respecto a Gln360His al igual que con Tre347Ser se han realizado en Estados Unidos y Brasil. Con respecto a Estados Unidos, Mata y cols. (1994) reportaron la frecuencia para el alelo His360 en las ciudades Beltsville, Boston y Dallas (9,48%); mientras que Kamboh y Ferrell (1987) analizaron individuos caucásicos (8,80%) y afroamericanos (3,50%) de ese país. Por su parte, Cendoroglo y cols. (2005) señalan en Framingham, (6,80%) un valor similar al de una población designada por Hanis y cols. (1991) como México-americanos (6,60%), en tanto que, Hixson y Powers (1991) encontraron una frecuencia de 3,40% en individuos de San Antonio Texas, siendo muy parecida a la descrita para afroamericanos. En relación a Brasil, Fiegenbaum y Hutz (2003) reportaron un 6,00% para este alelo en individuos descendientes de europeos pertenecientes a Rio Grande del Sur; no obstante, De Franca y cols. (2005), obtuvieron frecuencias más bajas (2,80%) en niños mezclados aparentemente sanos de Pernambuco. Sin embargo, Crew y cols. (1993), observaron que está ausente en indios Yanomamis del noreste de Brasil. Estos datos sugieren que His360 se encuentra casi exclusivamente en Europa o poblaciones descendientes de europeos y su presencia en poblaciones no caucásicas lo proponen como un marcador de mezcla (De Franca y cols., 2005) (Anexo 9).

Las proporciones genotípicas observadas en el estado Sucre fueron mayores para el homocigoto Gln/Gln (90,00%), más bajas para el heterocigoto Gln/His (10,00%) y nulas para His/His. A partir de las frecuencias alélicas y genotípicas, se realizó el ajuste de acuerdo al teorema de Hardy-Weinberg, determinándose que la población analizada se encuentra en equilibrio. Los valores encontrados en esta investigación fueron similares a los reportados por Heilbronn y cols. (2000) en Australia (91,63% para Gln/Gln, 8,33% para Gln/His y ausencia de His/His) (Crow, 1999).

En el continente europeo las frecuencias varían considerablemente para Gln/Gln (76,12 a 94,00%), Gln/His (6,00 a 23,88%) e His/His (0,00 a 3,90%). Miltiadous y cols. (2002) señalaron la ausencia de His/His en individuos de Grecia, de igual manera, este genotipo no se ha observado en Valencia-España, ni en la ciudad de Nancy-Francia (Zaiou y cols., 1994a; Carmena-Ramón y cols., 1998). En África, Sepehrnia y cols., (1988) reportaron frecuencias de 80,70% para Gln/Gln y 0,58% para Gln/His; mientras que, en el continente asiático, Saha y cols. (1997) encontraron un 94,30% para Gln/Gln y 5,70% para Gln/His (Anexo 10).

En América, las frecuencias genotípicas del homocigoto His/His son inferiores al 1,00%, llegando a estar ausente en algunas localidades. Tal es el caso de un grupo de afrodescendientes evaluados por Kamboh y Ferrell, (1987), los cuales presentaron solo los genotipos Gln/Gln (92,10%) y Gln/His (7,10%). Por otra parte, Hanis y cols. (1991) encontraron un 85,80% para Gln/Gln y 12,99% para Gln/His, en individuos definidos por los autores como México-norteamericanos; mientras que, Mata y cols. (1994) describen valores de 81,00% para Gln/Gln y 19,00% para Gln/His en diferentes ciudades de Estados Unidos. De igual manera, en Brasil este genotipo está ausente, así lo demuestran Fiegenbaum y Hutz, (2003) en un estudio realizado en adultos de Rio Grande del Sur (89,01% Gln/Gln y 10,99% Gln/His) y De Franca y cols. (2005) en niños de Pernambuco (94,40% Gln/Gln y 5,60% Gln/His). Se puede observar que la baja frecuencia de His360 afecta la proporción de Gln/His e His/His

generando la disminución o ausencia de ambos genotipos respectivamente (Anexo 10).

Los estudios en relación al sitio de restricción polimórfico *Xba* I intrón dos, son muy escasos. Las distribuciones alélicas obtenidas en esta investigación fueron 91,40% para el alelo X\*1 y 8,60% para X\*2. La frecuencia de X\*2 observada en el estado Sucre es más baja comparada con las obtenidas por Paul-Hayase y cols. (1992) en Bélgica (16,00%), con las descritas por Fiegenbaun y Hutz, (2003) en Rio Grande del Sur Brasil (18,00%) y con la señalada por Zaiou y cols. (1994a) en la ciudad de Nancy al noreste de Francia (21%) (Anexo 11).

El genotipo más común obtenido en este estudio fue X\*1/X\*1 (87,72%), seguido del heterocigoto X\*1/X\*2 (17,28%); mientras que, el homocigoto X\*2/X\*2 está ausente. Estas frecuencias estuvieron de acuerdo a lo esperado según el teorema de Hardy-Weinberg. Las proporciones genotípicas observadas en los individuos del estado Sucre difieren de las reportadas en otras poblaciones. En este sentido, Paul-Hayase y cols. (1992) observaron 77,62% para X\*1/X\*1, 13,99% para X\*1/X\*2 y 9,09% para X\*2/X\*2 en Bélgica, y Zaiou y cols. (1994a) señalaron 61,00% para X\*1/X\*1, 35,00% para X\*1/X\*2 y 4,00% para X\*2/X\*2 en franceses (Anexo 12).

En diversas investigaciones realizadas, se ha demostrado que los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y *Xba* I intrón dos, ejercen un efecto en el metabolismo de los lípidos y en el índice de masa corporal (IMC) y se han asociado con un incremento del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, sin embargo los resultados han sido contradictorios (Humphries y cols., 1987; Davignon y cols., 1988).

En el presente estudio no se muestran diferencias significativas entre los parámetros bioquímicos analizados y los diferentes genotipos del polimorfismo Tre347Ser. Estos datos son comparables con los obtenidos previamente en adultos aparentemente sanos

de la población general de la ciudad de Nancy, Francia, en los cuales Zaiou y cols. (1994a) no encontraron influencia de estas variables genéticas en siete rasgos cuantitativos tales como colesterol total, triglicéridos, HDL-c, Apo A-IV, Apo B, Apo A-I y glicemia. Así mismo, De Franca y cols. (2005) no observaron diferencias entre los niveles de lípidos y los genotipos en niños (5 a 15 años) de Pernambuco, Brasil. De manera similar, en pacientes con alteraciones en el metabolismo de los lípidos, Tenkanen y Ehnholm, (1992) no señalan tal asociación con las concentraciones de lípidos y lipoproteínas plasmáticas, en Finlandia; ni Miltiadous y cols. (2002) en pacientes de Grecia.

Por otra parte, Carmena-Ramón y cols. (1998) evaluaron la influencia que ejerce la variación del gen de APO A-IV sobre los lípidos, en respuesta a una dieta baja en grasas, durante un período de cuatro semanas, en pacientes con hipercolesterolemia familiar (HF), encontrando que no existen diferencias significativas en los niveles basales y postprandiales de lípidos y apolipoproteínas, entre los portadores del alelo Ser347 y los individuos homocigotos Tre347. Resultados similares fueron señalados por Ostos y cols. (1998) en estado postprandial; no obstante, Von Eckardstein y cols. (1992) observaron que la presencia de al menos un alelo Ser347 favorecía el incremento de la concentración plasmática de HDL-c y disminuía los niveles de LDL-c y Apo B. Por su parte, Saha y cols. (1997) también indicaron que en condiciones libre de ayuno los portadores de Ser347, presentan menores concentraciones de LDL-c cuando son comparados con los que poseen Tre347.

Jansen y cols. (1997) en un estudio realizado en individuos sanos, reportaron que las concentraciones de colesterol total, LDL-c y Apo B, aumentan en presencia del alelo Ser347, luego de consumir dietas ricas en grasas; además, señalan que el genotipo influye significativamente en la variabilidad del LDL-c y plantean que el alelo Ser347 produce cambios en la estructura secundaria de la proteína y un ligero aumento en el perfil hidrófilico en esta posición, que puede resultar en una disminución de su

afinidad por las lipoproteínas. La Apo A-IV secretada en los quilomicrones es rápidamente sustituida por Apo C-II de las HDL. Por este intercambio con Apo C-II, un cofactor esencial de la lipasa lipoproteica, se ha propuesto la hipótesis de que Apo A-IV puede regular la activación de la LPL y, por tanto, la hidrólisis de los quilomicrones. La menor afinidad de la Apo A-IV Ser347 por las partículas de las lipoproteínas puede facilitar el intercambio con Apo C-II, lo que aumenta la activación de la LPL que, a su vez, acelera la eliminación de restos de quilomicrones. Esta medida incrementa la cantidad de colesterol que llega al hígado en un estado postprandial y aumenta la regulación de los receptores de las LDL, lo que conduce a nuevos incrementos de LDL-c en el plasma. Por lo tanto, a través de este mecanismo, el consumo de dietas ricas en grasas produce un mayor aumento del LDL-c en los portadores del alelo Ser347, mientras que el consumo de una dieta baja en grasas debe hacer lo contrario, no obstante este mecanismo aun no ha sido confirmado (Jansen y cols., 1997).

En este estudio no se observaron asociaciones entre los parámetros antropométricos ICC e IMC, y los diferentes genotipos del polimorfismo Tre347Ser. Estos resultados son comparables con los reportados para grupos con hipercolesterolemia familiar (Miltiados y cols., 2002; Dallongeville y cols., 2005). Sin embargo, estudios previos señalan una influencia de Tre347Ser sobre el IMC. Al respecto, Fiegenbaum y Hutz, (2003) reportaron un alto IMC en portadores de Ser347, provenientes de Rio Grande del Sur, Brasil. De igual forma, Fisher y cols. (1999) encontraron un alto IMC e ICC en europeos que presentaban Ser347. En contraste, Lefevre y cols. (2000) evaluando la relación entre esta variante molecular de APO A-IV y el IMC, encontraron un valor elevado sólo en los homocigotos Ser/Ser de Louisiana EE.UU.

Con respecto a Gln360His, los individuos del estado Sucre analizados no mostraron diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de lípidos, glicemia, ni en el IMC e ICC en relación a los genotipos encontrados. Varios estudios muestran

que este polimorfismo no ejerce un efecto significativo en los lípidos y lipoproteínas plasmáticas. Tal es el caso del análisis de Zaiou y cols. (1994a) en Francia, Ehnholm y cols. (1994) en cinco regiones diferentes de Europa (Finlandia, Gran Bretaña, parte norte, media y sur de Europa) y De Franca y cols. (2005) en jóvenes brasileños. No obstante, Hanis y cols. (1991) señalan que la diversidad genética de Apo A-IV contribuye mínimamente en la variación de algunos de estos factores cuantitativos; mientras que, Larson y cols. (2002) encontraron que el genotipo Gln/His, aunque no ejerce influencia en los lípidos plasmáticos, manifiesta un mínimo efecto en los niveles de glucosa en el sexo femenino.

Existen investigaciones que señalan que Gln360His influye significativamente en los niveles de lípidos y lipoproteínas plasmáticas, tal es el caso del estudio realizado por Menzel y cols. (1988) en individuos de Tirol Austria, en el que los portadores del alelo His360 fueron asociados con una disminución del 11,00% en los niveles de triglicéridos y un aumento del 7,00% de la concentración de HDL-c, estos resultados fueron similares a los descritos posteriormente por Menzel y cols. (1990) en una población de Islandia. Por su parte, De Knijff y cols. (1988) observaron una disminución del 1,00% en los valores de triglicéridos, en los portadores del alelo menos común, y Cendoroglo y cols. (2005) reportaron un modesto efecto de Gln360His en los niveles de triglicéridos.

Este polimorfismo también ha sido evaluado en individuos no ayunados y sometidos a diferentes dietas. Al respecto, Saha y cols. (1997) encontraron que Gln360His no influye en los niveles de colesterol total, HDL-c, Apo A-I y Apo B, no obstante el genotipo Gln/His fue asociado con un mínimo aumento de los niveles de triglicéridos y disminución del LDL-c, comparados con los homocigotos Gln/Gln. De igual manera, Ostos y cols. (2000) demostraron que los portadores del alelo His360 presentan mayores niveles de triglicéridos basal y postprandial que los homocigotos Gln/Gln. Asimismo, Mata y cols. (1994) indican que el polimorfismo Gln360His

modula la disminución del LDL-c en respuesta a la dieta en hombres y que el HDL-c y triglicéridos se ven afectados por este locus en las mujeres. Mientras que, Carmena-Ramón y cols. (1998) estudiaron la variación genética de Apo A-IV en respuesta a la dieta en individuos con hipercolesterolemia familiar, estadísticamente no encontraron diferencias significativas en respuesta a la dieta para las concentraciones plasmáticas de colesterol total, LDL-c, HDL-c, VLDL-c y LDL-c, la única interacción gen-dieta fue observada para la concentración de Apo B.

Sin embargo, Weinberg y cols. (2000) evaluaron el efecto del genotipo de Apo A-IV en individuos sometidos a tres dietas con diferentes contenidos de grasas, encontrando que no hubo discrepancia en las concentraciones de lípidos entre el grupo Gln/Gln y Gln/His para ninguna de las tres dietas y plantean que el alelo His360 tiene un ritmo catabólico más lento, una estructura de  $\alpha$ -hélice que es más estable en solución, es más hidrofóbica y se une a las lipoproteínas con mayor afinidad que el alelo Gln360. Estas propiedades de Apo A-IV His360 pueden limitar la adsorción de Apo C-II e inhibir la actividad de la lipoproteína lipasa. De esta manera, la formación y la depuración hepática de los remanentes de quilomicrones se retarda, disminuyendo la cantidad de colesterol que llega al hígado en el estado post-pandrial y causando menos regulación hepática de los receptores de las LDL.

Heilbronn y cols. (2000) estudiaron el efecto de Gln360His en los lípidos durante la pérdida de peso, encontrando que la variabilidad del gen APO A-IV está asociada con el HDL-c en respuesta a la restricción de energía, mientras que, no se observó relación con el LDL-c en respuesta a la cantidad de peso perdido. Por otra parte, Fisher y cols. (1999) y Fiegenbaum y Hutz, (2003) analizaron la asociación de este polimorfismo con el IMC y el ICC en diferentes regiones de Europa y en Brasil, respectivamente; ambos estudios concluyen que la presencia del alelo His360 está asociada con un menor IMC y grasa corporal, cuando son comparados con el polimorfismo Trp347Ser.

En el presente estudio, no se encontró asociación entre el polimorfismo *Xba* I intrón dos, y los parámetros bioquímicos y antropométricos. Sin embargo, Fiegenbaum y Hutz, (2003) observaron un incremento del IMC en los portadores del alelo X\*2.

Las ECNT constituyen un problema creciente a nivel mundial, este fenómeno se atribuye a los cambios que han experimentado la mayor parte de los países, entre los que destaca el aumento de las expectativas de vida y la adquisición progresiva de un modelo de vida occidental (Fagalde y cols., 2005). Venezuela, no ha estado ajeno a esta situación y muestra en la actualidad un perfil epidemiológico semejante al de países con mayor desarrollo, con un predominio de enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares, diabetes mellitus y obesidad. Diversos factores de riesgo intervienen en la evolución de estas patologías, muchos de los cuales están asociados a estilos de vida, hábitos y costumbres que introducen la modernización, tales como sedentarismo, dietas inadecuadas, estrés, tabaquismo, consumo de alcohol y drogas. A través de la aplicación de encuestas a los individuos evaluados, se determinaron algunos de los factores de riesgo que predisponen al desarrollo de estas enfermedades (Cañete y Gil, 2007).

A partir de los datos recopilados en las encuestas se pudo observar que un gran porcentaje de los individuos estudiados, nunca han fumado (88,89%), estos resultados expresan que la población analizada tiene un riesgo de 11,11% de desarrollar ECNT por este factor. Con respecto al hábito alcohólico, el 45,68% reportó ser consumidores de bebidas de forma ocasional, 23,46% unas tres veces al mes, sólo 22,22% no ingieren este tipo de bebidas y un porcentaje muy bajo (8,64%) reconoció hacerlo de manera semanal. Diversos estudios demuestran que el riesgo cardiovascular es menor en las personas que beben cantidades moderadas de alcohol, entendiéndose por consumo moderado 10,00-30,00 g. La ingesta excesiva y crónica de licores, genera disfunciones en el metabolismo de los carbohidratos y de los lípidos, los cuales son el común denominador para desarrollar enfermedad vascular.

Además, las calorías del alcohol aumentan la grasa corporal, lo cual puede a su vez incrementar el riesgo cardiovascular (Bermúdez-Pirela y cols., 2003).

Por otra parte, el 35,80% de los individuos analizados admitieron no practicar deportes, 34,57% realizan actividades moderadas y sólo 29,63% se ejercitan frecuentemente o son deportistas. Las personas inactivas tienen un mayor riesgo de desarrollar ciertas enfermedades. El ejercicio ayuda a controlar los niveles de colesterol y la diabetes, además fortalece el músculo cardíaco y hace más flexibles las arterias. Las personas que queman activamente entre 500 y 3 500 calorías por semana, ya sea en el trabajo o haciendo ejercicio, tienen una expectativa de vida superior a la de las personas sedentarias. Incluso las actividades de intensidad moderada es beneficioso si se hace con regularidad. Con respecto a los antecedentes familiares 90,12% reflejó la ausencia de éstos, no obstante, 9,88% manifestó tener antecedentes de hipertensión arterial (HTA), hipercolesterolemia (Hcol), hipertrigliceridemia (Htg), enfermedades cardiovasculares (ECV) y diabetes. Algunas de estas patologías suelen ser hereditarias, por ejemplo, si los padres o hermanos padecieron una de estas enfermedades antes de los 55 años de edad, la persona tiene un mayor riesgo a desarrollarlas que alguien que no tiene esos antecedentes familiares (Ruiz y cols., 1986).

Seguir una buena alimentación es una de las maneras más sencillas y eficaces de reducir el riesgo de sufrir enfermedades del corazón, cáncer y otras alteraciones de la salud. La buena nutrición consiste en comer una variedad de alimentos, limitar el consumo de otros y controlar la cantidad de calorías que se ingieren. Una dieta balanceada ayuda a reducir el riesgo cardiovascular porque reduce tanto el colesterol y la presión arterial como el peso. En este estudio se pudo observar que el grupo analizado parece tener una alimentación relativamente equilibrada con respecto al consumo de carnes, vegetales, legumbres y frutas, no obstante, un alto porcentaje de los individuos consume con mayor frecuencia azúcar añadida (87,67%), aceite

(64,19%), margarina (49,39%) y café (40,74%), alimentos con alto contenido calórico que favorece el desarrollo de ECNT.

En muchos países, la prevalencia de ECNT ha aumentado notablemente, por tal motivo, se considera importante el análisis de los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y *Xba* I intrón dos en los individuos del estado Sucre, con el fin de evaluar el aporte genético en el desarrollo de las mismas. Los resultados obtenidos en este estudio constituyen las bases de futuras investigaciones con respecto a las variantes del gen APO A-IV en nuestro país.

## CONCLUSIONES

La frecuencia del alelo Ser347 (8,60%), es la más baja reportada en las poblaciones analizadas hasta el momento, a excepción de China y Japón donde este alelo está ausente.

El estado Sucre presenta la frecuencia más elevada del genotipo Tre/Tre (82,72%), y la más baja del heterocigoto Tre/Ser (17,28%) a escala mundial, según los datos disponibles.

La frecuencia de His360 (5,00%), tiene una proporción igual a la reportada para países del sur de Europa que han desempeñado un papel preponderante en la historia de Venezuela.

El genotipo Gln/Gln (90,00%) es superior al reportado para países del continente europeo (Austria, Holanda, Gran Bretaña, Francia, Italia, Portugal, Alemania, Dinamarca y España) exceptuando Finlandia (90,67%) y Grecia (94,00%).

El alelo His360 parece tener una distribución a escala poblacional más homogénea que Ser347, no obstante los escasos estudios realizados al respecto, dificultan un análisis concluyente.

La población del estado Sucre presenta la frecuencia más baja (8,60%) del alelo X\*2, comparado con las poblaciones de Bélgica (16,00%), Francia (21,00%) y Brasil (18,00%).

El genotipo X\*1/X\*1 (87,72%) es mayor al descrito para países europeos (61,00-77,60%).

La baja frecuencia de las variantes Ser347, His360 y X\*2 observadas en este estudio comprometen las distribuciones de los genotipos que presentan al menos uno de estos alelos.

La ausencia de los genotipos Ser/Ser, His/His y X\*2/X\*2, en estos individuos, dificulta el análisis comparativo de las variables estudiadas entre los heterocigotos y homocigotos de cada uno de los polimorfismos evaluados.

La muestra poblacional analizada esta en equilibrio de Hardy-Weinberg, de acuerdo a las frecuencias genóticas de los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y *Xba* I intrón dos.

Los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y *Xba* I intrón dos, no presentan asociación con los niveles de lípidos y glicemia en los individuos estudiados.

En la muestra poblacional analizada, no existe asociación entre las variantes genéticas de APO A-IV estudiadas y los parámetros antropométricos IMC e ICC.

## RECOMENDACIONES

Realizar análisis de los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y *Xba* I intrón dos en otros estados del país, con el fin de conocer su distribución.

Realizar estudios de desequilibrio de ligamiento que permitan dilucidar la posible asociación de estos polimorfismos con otras secuencias de nucleótidos modificadas en el grupo de genes APO A-I/C-III/A-IV.

Analizar si existe influencia de otras variantes genéticas de Apo A-IV sobre el metabolismo de los lípidos, en individuos venezolanos.

Investigar si los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y *Xba* I intrón dos, muestran asociación con ECNT, con el fin de proveer información adicional para la identificación y prevención de las mismas.

## BIBLIOGRAFÍA

Albert, M.; Rey, M.; Rodríguez, W.; Suzarte, J. y Reyes, E. 2008. Prevalencia de obesidad y sobrepeso en una escuela primaria urbana. Endocrinología y Nutrición, 81: 941-945.

Allayee, H.; Dominguez, K.; Aouizerat, B.; Krauss, R.; Rotter, J.; Lu, J.; Cantor, R.; Lusic, A. y De Bruin T. 2000. Contribution of the hepatic lipase gene to the atherogenic lipoprotein phenotype in familial combined hyperlipidemia. Journal of Lipid Research, 41: 245-252.

Anantharamaiah, G.; Venkatachalapathi, Y.; Brouillette, C. y Segrest, J. 1990. Use of synthetic peptide analogues to localize lecithin: cholesterol acyltransferase activating domain in apolipoprotein A-I. Arteriosclerosis, 10: 95-105.

Aouizerat, B.; Allayee, H.; Cantor, R.; Davis, R.; Lanning, C.; Wen, P.; Dallinga-Thie, G.; De Bruin, T.; Rotter, J. y Lusic, A. 1999. A genome scan for familial combined hyperlipidemia reveals evidence of linkage with a locus on chromosome 11. American Journal of Human Genetics, 65: 397-412.

Bai, H.; Liu, R.; Liu, Y.; Saku, K. y Liu, B. 2008. Distribution and effect of apo A-IV genotype on plasma lipid and apolipoprotein levels in a Chinese population. Acta Cardiológica, 63: 315-322.

Bai, H.; Saku, K.; Liu, R.; Oribe, Y.; Yamamoto, K. y Arakawa, K. 1996. Polymorphism of the apolipoprotein A-IV gene and its significance in lipid metabolism and coronary heart disease in a Japanese population. European Journal of Clinical Investigation, 26: 1115-1124.

Barter, P. 2002. The regulation and remodeling of HDL by plasma factors. Atherosclerosis Supplement, 3: 39-47.

Basu, S.; Ho, Y.; Brown, M.; Bilheimer, D.; Anderson, R. y Goldstein, J. 1982. Biochemical and genetic studies of the apoprotein E secreted by mouse macrophages and human monocytes. Journal of Biological Chemistry, 257: 9788-9795.

Bauer, J. 1986. Análisis clínico. Método e interpretación. Edición 1. Editorial Reverté, S.A. Barcelona, España.

Berdasco, A.; Romero, J. y Jiménez, J. 2002. Valores del índice de cintura/cadera en población adulta de ciudad de la habana. Revista Cubana Alimentación y Nutrición, 16: 42-47.

Bermudez-Pirela, V.; Leal-Gonzalez, E.; Bermúdez-Arias, F.; Cano, C.; Cabrera, M.; Ambard, M.; Toledo, A.; Leal, N.; Cano, R.; Mengual, E. y Lemus, M. 2003. El alcohol: ¿factor de riesgo o de protección para la enfermedad coronaria?. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica, 22: 116-125.

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

Bisgaier, C.; Sachdev, O.; Megna, L. y Glickman, R. 1985. Distribution of apolipoprotein A-IV in human plasma. Journal of Lipid Research, 26: 11-25.

Boerwinkle, E.; Visvikis, S. y Chan, L. 1990. Two polymorphisms for amino acid substitutions in the APOA4 gene. Nucleic Acids Research, 18: 4966.

Breslow, J. 1988. Apolipoprotein genetic variation and human disease. Physiological Reviews, 68: 85-132.

Brewer, H.; Fairwell, T.; La Rue, A.; Ronan, R.; Houser, A. y Bronzert, T. 1978. The amino acid sequence of human apo A-I, an apolipoprotein isolated from high density lipoproteins. Biochemical and Biophysical Research Communications, 80: 623-630.

Brown, V. y Baginsky, M. 1972. Inhibition of lipoprotein lipase by an apoprotein of human very low density lipoprotein. Biochemical and Biophysical Research Communications, 46: 375-382.

Campagna, A.; Baroni, M.; María, A.; Ricci, G.; Antonini, R.; Verna, R. y Arca, M. 2002. Common variants in the lipoprotein lipase gene, but not those in the insulin receptor substrate [ndash] 1, the [beta]-adrenergic receptor, and the intestinal fatty acid binding protein-2 genes influence the lipid phenotypic expression in familial combined hyperlipidemia. Metabolism, 51: 1298-1305.

Canal, L. y Gómez, D. 2008. Comportamiento del perfil lipídico y de las apolipoproteínas A-I y B<sub>100</sub> en pacientes con síndrome metabólico. Trabajo para optar al título de bacteriólogo. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.

- Cañete, R. y Gil, M. 2007. Nuevos aspectos de la obesidad. Vox Pediátrica, 15(1): 44-49.
- Carmena-Ramón, R.; Ascaso, J.; Real, J.; Ordovas, M. y Carmena, R. 1998. Hypercholesterolemia genetic variation at the apo A-IV gene locus and response to diet in familial. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 18: 1266-1274.
- Cendoroglo, M.; Lahoz, C.; Martinez, T.; Ordovas, J.; Lamon-Fava, S.; Cupples, A.; Wilson, P. y Schaefer, E. 2005. Association of apo A-IV (Gln→His) polymorphism with plasma lipids and lipoproteins: the Framingham Offspring Study. Atherosclerosis, 179: 169-175.
- Cohen, R.; Castellani, L.; Qiao, J.; Van Lenten, B.; Lusis, A. y Reue, K. 1997. Reduced aortic lesions and elevated high density lipoprotein levels in transgenic mice overexpressing mouse apolipoprotein A-IV. Journal Clinical Investigation, 99: 1906–1916.
- Crews, E.; Kamboh, M.; Mancilha-Carvalho, J. y Kottke, B. 1993. Population genetics of apolipoprotein A-4, E, and H polymorphisms in Yanomami Indians of northwestern Brazil: associations with lipids, lipoproteins, and carbohydrate metabolism. Human Biology, 65: 211–24.
- Crow, J. 1999. Hardy, Weinberg and language impediments. Genetics, 152: 821-825.
- Dallongeville, J.; Delcroix, A.; Wagner, A.; Ducimetière, P.; Ruidavets, J.; Arveiler, D.; Bingham, A.; Ferrières, J.; Amouyel, P. y Meirhaeghe, A. 2005. The *APOA4* Thr<sub>347</sub>→Ser<sub>347</sub> polymorphism is not a major risk factor of obesity. Obesity research, 13: 2132-2138.
- Davignon, J.; Gregg, R. y Sing, C. 1988. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. Atherosclerosis, 8: 1-21.
- Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. 2004. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Asamblea General de la AMM 17.C. Tokio, Japón.
- De Franca, E.; Alves, J. y Hutz, M. 2005. APOA1/C3/A4 gene cluster variability and lipid levels in Brazilian children. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 38: 535-541.
- De Knijff, P.; Rosseneu, M.; Beisiegel, U.; de Keersgieter, W.; Frants, R. y Havekes, L. 1988. Apolipoprotein A-IV polymorphisms and its effect on plasma lipid and apolipoprotein concentrations. Journal of Lipid Research, 29: 1621-1627.

Duverger, N.; Tremp, G.; Caillaud, J.; Emmanuel, F.; Castro, G.; Fruchart, J.; Steinmetz, A. y Deneffe, P. 1996. Protection against atherogenesis in mice mediated by human apolipoprotein A-IV. Science, 273: 966–968.

Ehnholm, C.; Tenkanen, H.; De Knijff, P.; Havekes, L.; Rosseneu, M.; Menzel, H. y Tiret, L. 1994. Genetic polymorphism of apolipoprotein A-IV in five different regions of Europe. Relations to plasma lipoproteins and to history of myocardial infarction: the EARS study. Atherosclerosis, 107: 229-238.

Fagalde, M.; Del Solar, J.; Guerrero, M. y Atalah, E. 2005. Factores de riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles en funcionarios de una empresa de servicios financieros de la Región Metropolitana. Revista Médica de Chile, 133: 919-928.

Ferretti, G.; Bacchetti, T.; Bicchiega, V. y Curatola, G. 2002. Effect of human apo A-IV against lipid peroxidation of very low density lipoproteins. Chemistry and Physics of Lipids, 114: 45–54.

Fiegenbaum, H. y Hutz, M. 2003. Further evidence for the association between obesity-related traits and the apolipoprotein A-IV gene. International Journal of Obesity, 27: 484-490.

Fielding, C.; Shore, V. y Fielding, P. 1972. A protein cofactor of lecithin: cholesterol acyltransferase. Biochemical and Biophysical Research Communications, 46: 1493-1498.

Fisher, R.; Burke, H.; Nicaud, V.; Ehnholm, C. y Humphries S. on behalf of the EARS Group. 1999. Effect of variation in the apo A-IV gene on body mass index and fasting and postprandial lipids in the European Atherosclerosis Research Study II. Journal of Lipid Research, 40: 287-293.

Fournier, N.; Atger, V.; Paul, J.; Sturm, M.; Duverger, N.; Rothblat, G. y Moatti, N. 2000. Human apo A-IV overexpression in transgenic mice induces cAMP-stimulated cholesterol efflux from J774 macrophages to whole serum. Artherosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology, 20: 1283–1292.

Ghiselli, G.; Krishna, S.; Beigle, Y. y Gotto, A. 1986. Plasma metabolism of apolipoprotein A-IV in humans. Journal of Lipid Research, 27: 813–827.

Glomset, J. 1968. The plasma lecithin:cholesterol acyltransferase reaction. Journal of Lipid Research, 9: 155-167.

Glomset, J. y Norum, K. 1973. The metabolic role of lecithin-cholesterol acyltransferase: perspectives from pathology. Advances in Lipid Research, 11: 1-65.

Green, P.; Glickman, R.; Riley, J. y Quinet, E. 1980. Human apolipoprotein A-IV: intestinal origin and distribution in plasma. Journal of Clinical Investigation, 65: 911–919.

Hanis, C.; Douglas, T. y Hewett-Emmett, D. 1991. Apolipoprotein A-IV protein polymorphism: frequency and effects on lipids, lipoproteins, and apolipoproteins among Mexican-Americans in Starr County, Texas. Human Genetics, 86: 323-325.

Heilbronn, L.; Noakes, M.; Morris, A.; Kind, K. y Clifton, P. 2000. 360His polymorphism of the apolipoprotein A-IV gene and plasma lipid response to energy restricted diets in overweight subjects. Atherosclerosis, 150: 187-192.

Hernández, R. 1997. Manual de antropología. Técnicas e instrumentos. Laboratorio de Evaluación Nutricional. Universidad Simón Bolívar. Caracas.

Hixson, J. y Powers, P. 1991. Restriction isotyping of human apolipoprotein A-IV: rapid typing of known isoforms and detection of a new isoform that deletes a conserved repeat. Journal Lipid Research, 32: 1529–1535.

Huertas-Vásquez, A. 2008. Aspectos genéticos de la hiperlipidemia familiar combinada. Endocrinología y Nutrición, 16: 16-23,

Humphries, S.; Talmud, P. y Kessling, A. 1987. The use of DNA polymorphisms of the apolipoprotein genes to study the role of genetic variation in the determination of serum lipid levels. Ciba Foundation Symposium, 130: 128-149.

Jansen, S.; López-Miranda, J.; Salas, J.; Ordovas, J.; Castro, P.; Marín, C.; Ostos, M.; López-Segura, F.; Jiménez-Pereperez, J.; Blanco, A. y Pérez-Jiménez, F. 1997. Effect of 347-serine mutation in apoprotein a-iv on plasma ldl cholesterol response to dietary fat. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 17: 1532-1538.

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

Kamboh, M. y Ferrell, R. 1987. Genetic Studies of Human Apolipoproteins. I. Polymorphism of Apolipoprotein A-IV. American Journal of Human Genetics, 41: 119-127.

Lahari, D. y Nurnberger, J. 1991. A rapid non-enzymatic method for the preparation

- of HMW DNA from blood for RFLP studies. Nucleic Acids Research, 19: 5444.
- Larson, I.; Ordovas, J.; Sun, Z.; Barnard, J.; Lohrmann, J.; Feussner, G.; Lamon-Fava, S. y Schaefer, E. 2002. Effects of apolipoprotein A-IV genotype on glucose and plasma lipoprotein levels. Clinical Genetics, 61: 430-436.
- Lefevre, M.; Lovejoy, J.; DeFelice, S.; Keener, J.; Bray, G.; Ryan, D.; Hwang, D. y Greenway, F. 2000. Common apolipoprotein A-IV variants are associated with differences in body mass index levels and percentage body fat. International Journal of Obesity, 24: 945-953.
- Lefevre, M. y Roheim, P. 1984. Metabolism of apolipoprotein A-IV. Journal of Lipid Research, 25: 1603-1610.
- Lohse, P.; Kindt, M.; Rader, D. y Brewer, H. 1990. Genetic polymorphism of human plasma A-IV is due to nucleotide substitutions in the apolipoprotein A-IV gene. Journal of Biological Chemistry, 265: 10061-10064.
- Lohse, P.; Kindt, M.; Rader, D. y Brewer, H. 1991. Three genetic variants of human plasma apolipoprotein A-IV. ApoA-IV-I (Thr347->Ser). ApoA-IV-0 (Lys167->Glu. Gln360->His), and ApoA-IV-3 (Glu165->Lys). Journal of Biological Chemistry, 266: 13513-13518.
- Lukka, M.; Metso, J. y Ehnholm, C. 1988. Apolipoprotein A-IV polymorphism in the Finnish population: gene frequencies and description of a rare allele. Human Heredity, 38: 359-362.
- Mar, R.; Pajukanta, P.; Allayee, H.; Groenendijk, M.; Dallinga-Thie, G.; Krauss, R.; Sinsheimer, J.; Cantor, R.; Lusi, A. y De Bruin T. 2004. Association of the apolipoprotein A1/C3/A4/A5 gene cluster with triglyceride levels and LDL particle size in familial combined hyperlipidemia. Circulation Research, 94: 993-999.
- Mata, P.; Ordovas, J.; López-Miranda, J.; Lichtenstein, A.; Clevidence, B.; Judd, J. y Schefer, E. 1994. Apo A-IV phenotype affects diet-induced plasma LDL cholesterol lowering. Arteriosclerosis and Thrombosis, 14: 884-891.
- Menzel, H.; Boerwinkle, E.; Schrangl-Will, S. y Utermann, G. 1988. Human apolipoprotein A-IV polymorphism: frequency and effect on lipid and lipoprotein levels. Human Genetics, 79: 368-372.
- Menzel, H.; Kövary, P. y Assmann, G. 1982. Apolipoprotein A-IV polymorphism in man. Human Genetics, 62: 349-352.

Menzel, H.; Sigurdsson, G.; Boerwinkle, E.; Schrangl-Will, S.; Dieplinger, H. y Utermann, G. 1990. Frequency and effect of human apolipoprotein A-IV polymorphism on lipid and lipoprotein levels in an Icelandic population. Human Genetics, 84: 344-346.

Miltiadous, G.; Hatzivassiliou, M.; Bashiardes, E.; Bairaktari, E. y Cariolou, G. 2002. Genetic polymorphisms of the apolipoprotein A-IV in a Greek population and their relation to plasma lipid and lipoprotein levels. Clinical Genetics, 62: 208 –213.

Naoumova, R.; Bonney, S.; Eichenbaum-Voline, S.; Patel, H.; Jones, B.; Jones, E.; Amey, J.; Colilla, S.; Neuwirth, C.; Allotey, R.; Seed, M.; Betteridge, D.; Galton, D.; Cox, N.; Bell, G.; Scott, J. y Shoulders, C. 2003. Confirmed locus on chromosome 11p and candidate loci on 6q and 8p for the triglyceride and cholesterol traits of combined hyperlipidemia. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology, 23: 2070-2077.

Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose. The Journal of Biological Chemistry, 153: 375-380.

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.

Ordovas, J.; Civeria, F.; Craing, S.; Robbins, A.; Meade, T.; Pocovi, M.; Frossard, P.; Masharani, U.; Wilson, P.; Salem, D.; Ward, R. y Schaefer, E. 1991. Restriction fragment length polymorphisms of the apolipoprotein AI, CIII, AIV gene locus. Relationships with lipids, apolipoproteins and premature coronary artery disease. Atherosclerosis, 87: 75-86.

Ostos, M.; Conconi, M.; Vergnes, L.; Baroukh, N.; Ribalta, J.; Girona, J.; Caillaud, J.; Ochoa, A. y Zakin, M. 2001. Antioxidative and antiatherosclerotic effects of human apolipoprotein A-IV in apolipoprotein E-deficient mice. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology, 21: 1023–1028.

Ostos, M.; López-Miranda, J.; Ordovas, J.; Marín, C.; Blanco, A.; Castro, P.; López-Segura, P.; Jiménez-Pereperez, J. y Perez-Jiménez, F. 1998. Dietary fat clearance is modulated by genetic variation in apolipoprotein A-IV gene locus. Journal of Lipid Research, 39: 2493–2500.

Ostos, M.; López-Miranda, J.; Ordovas, J.; Marín, C.; Castro, P.; Gómez, P.; Paz, E.; Jiménez-Pereperez, J.; Ordovas, J. y Perez-Jiménez, F. 2000. The apolipoprotein A-IV-360His polymorphism determines the dietary fat clearance in normal subjects. Atherosclerosis, 153: 209-217.

Oviedo, G.; Moron-Salim, A. y Solano, R. 2001. Estado nutricional en niños de 1 a 7 años en una población suburbana de Valencia. Anales Venezolanos de Nutricion, 14: 70-74.

Oviedo, G.; Morón-Salim, A. y Solano, L. 2006. Indicadores antropométricos de obesidad y su relación con la enfermedad isquémica coronaria. Nutrición Hospitalaria, 21: 695-698.

Paul-Hayase, H.; Rosseneu, M.; Van Bervliet, J.; Deslypere, J. y Humphries, S. 1992. Polymorphisms in the apolipoprotein (apo) AI-CIII-AIV gene cluster: detection of genetic variation determining plasma apo AI, apo CIII and apo AIV concentrations. Human Genetics, 88: 439-446.

Paulweber, B.; Friedl, W.; Krempler, F.; Humphries, S. y Sandhofer, F. 1988. Genetic variation in the apolipoprotein AI-CIII-AIV gene cluster and coronary heart disease. Atherosclerosis, 73: 125-133.

Pérez-Méndez, O. 2004. Lipoproteínas de alta densidad (HDL). ¿Un objetivo terapéutico en la prevención de la aterosclerosis?. Archivo Cardiológico Mexicano, 74: 53-67.

Ramírez, I.; Bellabarba, S.; Paoli-Valeri, M. y Arata-Bellabarba, G. 2004. Frecuencia de obesidad y sobrepeso en escolares de la zona urbana de Mérida-Venezuela. Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo, 2: 16-21.

Reed, T. y Schull, W. 1968. A general maximum likelihood estimation program. American Journal Human Genetics, 6: 579-580.

Restrepo, M. 1997. La antropometría en la evaluación del estado nutricional del adulto.: Nutrición y Dietética. Centro de Atención Nutricional. Medellín, 5(2): 193-199.

Rodríguez-Arroyo, G.; Paradisi, I.; Vivenes, M.; Castro, D. y Rodríguez, Á. 2006 Polimorfismo A19G del gen Lep y posibles asociaciones con el sobrepeso/obesidad en individuos aparentemente sanos del estado Sucre, Venezuela. IX Congreso de la Asociación Latinoamericana de Antropología Biológica y I Congreso Brasileiro de Antropología Biológica. Ouro Preto, Brasil.

Rodríguez-Arroyo, G.; Paradisi, I.; Vívenes, M.; Castro, Dinorah y Rodríguez, Á. 2008. Polimorfismos *TaqI*, *HincII*, *AvaII* *MspI* y *NcoI* del gen LDLR y posibles asociaciones con el sobrepeso/obesidad en individuos del estado Sucre, Venezuela. X congreso Latinoamericano de Antropología Biológica. La Plata, Argentina.

Ruiz-Moreno, M.; Gutiérrez- Gutiérrez, M.; Rincón, P.; Álvarez-Sala, L. y Camps, M. 1986. Moderate hypercholesterolemia in children. An index of familial pathology?. Anales Españoles de Pediatría, 25: 322-328.

Saha, N.; Wang, G.; Vasisht, S. y Kamboh, M. 1997. Influence of two apoA4 polymorphisms at codons 347 and 360 on non-fasting plasma lipoproteinlipids and apolipoproteins in Asian Indians. Atherosclerosis, 131: 249–255.

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: 478-491.

Sepehrnia, B.; Kamboh, M.; Adams-Campbell, L.; Nwankwo, M. y Ferrell, R. 1988. Genetic studies of human apolipoproteins. VII. Population distribution of polymorphisms of apolipoproteins A-I, A-II, A-IV, C-II, E and H in Nigeria. American Journal of Human Genetics, 43: 847-853.

Shore, V. y Shore, B. 1973. Heterogeneity of human plasma very low density lipoproteins: separation of species differing in protein components. Biochemistry, 12: 502-507.

Silveria, M.; Martínez, L.; Muñoz, P. y Carraro, R. 2007. Nutrigénomica, obesidad y salud pública. Revista Española de Salud Pública, 81: 475-478.

Sokal, R. y Rohlf, J. 1981. Principios y Métodos Estadísticos en la Investigación Biológica. Editorial H. Bllume. Madrid.

Tenkanen, H.; Lukka, M.; Jauhiainen, M.; Mesto, J.; Baumann, M.; Peltonen, L.; Ehnholm, C. 1991. The mutation causing the common apolipoprotein A-IV polymorphism is a glutamine to histidine substitution of amino acid 360. Artherosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology, 11: 851-856.

Tenkanen, H. y Ehnholm, C. 1992. Molecular basis for apo A-IV polymorphisms. Annals of Medicine, 24: 369–74.

Trinder, P. 1974. Evulation and treatment of high blod cholesterol in adults. Annals of Clinical Biochemistry, 6: 24-27.

Tybjaerg-Hansen, A.; Nordestgaard, B.; Gerdes, L.; Faergeman, O. y Humphries, S. 1993. Genetic markers in the apo AI-CIII-A-IV gene cluster for combined hyperlipidemia, hypertriglyceridemia, and predisposition to atherosclerosis. Atherosclerosis, 100: 157-169.

Utermann, G. y Beisiegel, U. 1979. Apolipoprotein A-IV: a protein occurring in human mesenteric lymph chylomicrons and free in plasma. Isolation and quantification. European Journal of Biochemistry, 99: 333-343.

Von Eckardstein, A.; Funke, H.; Schulte, M.; Erren, M.; Schulte, H. y Assmann, G. 1992. Nonsynonymous polymorphic sites in the apolipoprotein (apo) A-IV gene are associated with changes in the concentration of apo B and apo A-I-containing lipoproteins in a normal population. American Journal of Human Genetics, 50: 1115-1128.

Wang, G.; DiPietro, M.; Roeder, K.; Heng, C.; Bunker, C.; Hamman, R. y Kamboh, M. 2003. Cladistic analysis of human apolipoprotein A4 polymorphisms in relation to quantitative plasma lipid risk factors of coronary heart disease. Annals of Human Genetics, 67: 107-124.

Weinberg, R. 2002. Apolipoprotein A-IV polymorphisms and diet-gene interactions. Current Opinion in Lipidology, 13: 125-134.

Weinberg, R.; Jordan, M. y Steinmetz, A. 1990. Distinctive structure and function of human apolipoprotein variant Apo A-IV-2. Journal Biological Chemistry, 265: 18372-18378.

Weinberg, R. y Scanu, A. 1983. Isolation and characterization of human apolipoprotein A-IV from lipoprotein-depleted serum. Journal of Lipid Research, 44: 52-59.

Weiner y Lourie. 1969. Human biology: A guide to field methods. International Biological Programme by Blackwell Scientific, Oxford and Edinburgh.

Weisgraber, K.; Bersot, T. y Mahley, R. 1978. Isolation and characterization of an apoprotein from the d less than 1.006 lipoproteins of human and canine lymph homologous with the rat A-IV apoprotein. Biochemical and Biophysical Research Communications, 85: 287-292.

Williams, R. 1984. Understanding genetic and environmental risk factors in susceptible persons. The Western Journal of Medicine, 141: 799-806.

Wong, W.; Gerry, A.; Putt, W.; Roberts, J.; Weinberg, R.; Humphries, S.; Leake, D. y Talmud, P. 2007. Common variants of apolipoprotein A-IV differ in their ability to inhibit low density lipoprotein oxidation. Atherosclerosis, 192: 266–274.

Wong, W.; Stephens, J.; Acharya, J.; Hurel, S.; Humphries, S. y Talmaud, P. 2004. The APOA4 T347S variant is associated with reduced plasma TAO Sin subjects with diabetes mellitus and cardiovascular disease. Journal Lipid Research, 45: 1565–71.

World Health Organization. 1995. Physical Status: The use and interpretation of Anthropometry. Report Series 854.

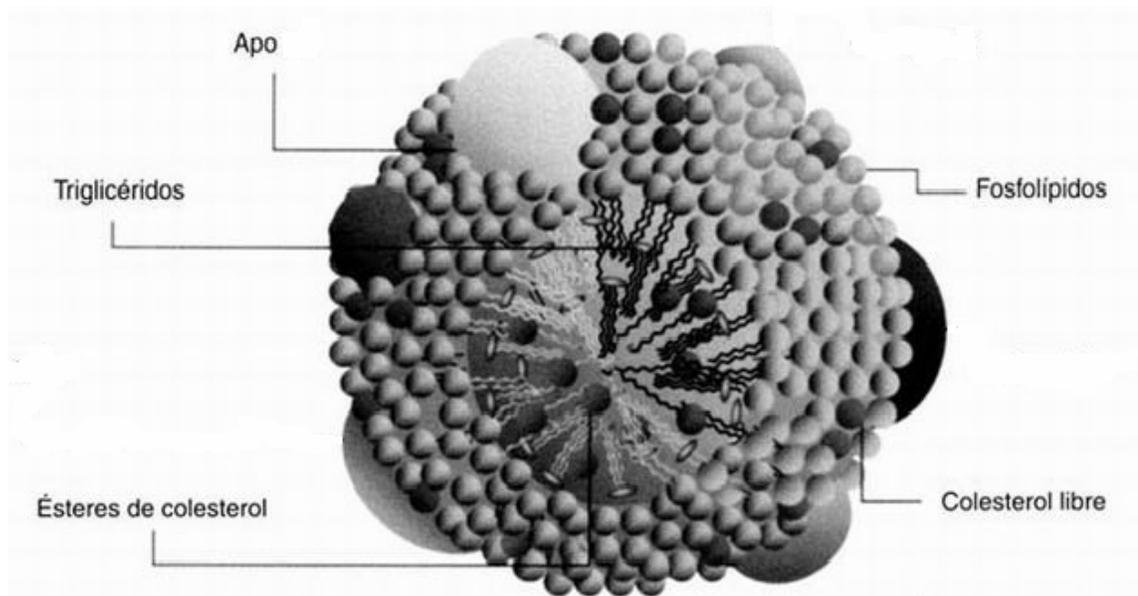
Zaiou, M.; Visvikis, S.; Gueguen, R.; Parra, H.; Fruchart, J. y Siest, G. 1994a. DNA polymorphisms of human apolipoprotein A-IV gene: frequency and effects on lipid, lipoprotein and apolipoprotein levels in a French population. Clinical Genetics, 46: 248-254.

Zaiou, M.; Visvikis, S.; Gueguen, R.; Steinmetz, J.; Parra, H.; Fruchart, J. y Siest, G. 1994b. Sources of variability of human plasma apolipoprotein A-IV levels and relationships with lipid metabolism. Genetic Epidemiology, 11: 101–114.

## ANEXOS

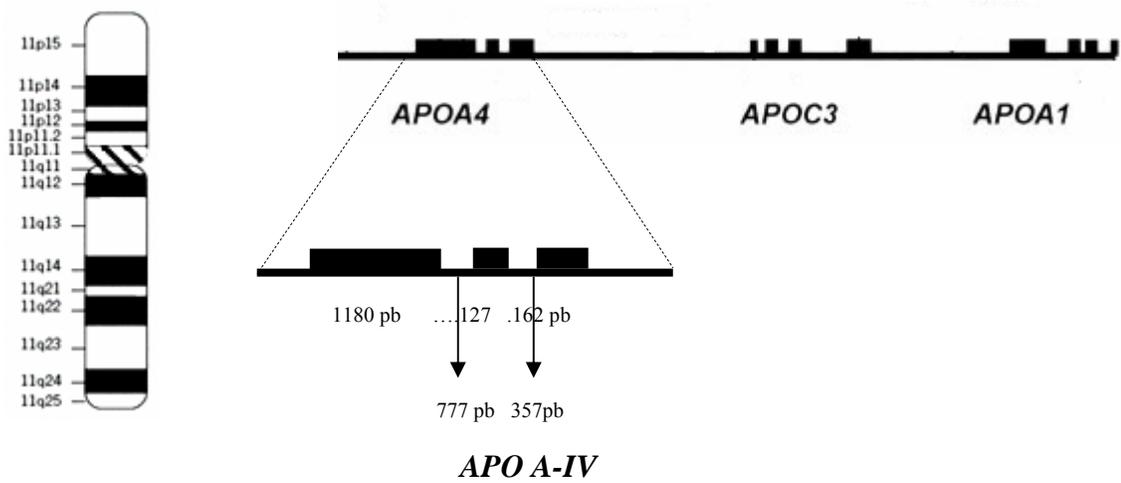
### ANEXO 1

Representación esquemática de la organización de las lipoproteínas (tomado de Pérez-Méndez, 2004).



## ANEXO 2

Localización cromosómica del gen APO A-IV.



## ANEXO 3

### INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE

En el Departamento de Bioanálisis de la Universidad de Oriente, Núcleo Sucre y en el Laboratorio de Genética Humana del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) se va a llevar a cabo el proyecto de investigación titulado **“Asociación entre polimorfismos de los genes para la Leptina (LEP), el Receptor de la Lipoproteína de Baja Densidad (LDLR) y la Apolipoproteína A-IV (APOA-IV), con fenotipos relacionados a la obesidad en una muestra del Estado Sucre”**, con el objeto de estudiar la asociación entre varias características hereditarias reportadas previamente en la literatura, con la gordura u obesidad, a fin de conocer las posibles causas de su aparición.

Este proyecto está basado en la observación de múltiples investigaciones donde se ha demostrado la asociación de ciertos marcadores genéticos, con la aparición de la obesidad.

Su participación en el proyecto consiste en donar, de manera voluntaria, al Departamento de Bioanálisis de la UDO, núcleo Sucre y al IVIC una muestra de sangre de 10 cc , la cual le será tomada por una persona capacitada y autorizada por el referido equipo, después de 12 a 14 horas sin comer, con una inyectadora, de la vena del antebrazo, el cual será desinfectado con alcohol. También deberá responder las preguntas de una encuesta que contiene datos personales, socioeconómicos, sobre actividad física, historia clínica, consumo de tabaco y alcohol, cómo es su apetito y consumo de alimentos, realizada por una persona capacitada y con carácter confidencial.

La muestra sanguínea a donar será utilizada única y exclusivamente para determinar marcadores genéticos de nuestras células y concentraciones de azúcar y grasa en la sangre.

Las muestras serán almacenadas por los Doctores Alvaro Rodríguez y Dinorah Castro en el Laboratorio de Genética Humana del IVIC, para ser utilizadas en futuras investigaciones, que permitan conocer más acerca de la asociación de la obesidad con factores genéticos, previa aprobación de la Comisión de Bioética del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).

Además de la toma de muestra de sangre se le realizarán una serie de medidas en el cuerpo (peso, talla, y circunferencias de cintura y cadera), con instrumentos hechos para tal fin y por personal entrenado; esta evaluación requiere que use la menor cantidad de ropa posible para garantizar su precisión y exactitud: ropa interior, traje de baño o shorts y franelillas. Con estas medidas se calcularán una serie de indicadores relacionados con la gordura u obesidad.

Ni los estudios realizados en las muestras de sangre por Ud. donadas, ni la toma de medidas en su cuerpo tendrán ningún costo económico para usted.

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

Los resultados obtenidos en el presente estudio solamente serán usados con fines académicos. Los resultados de las pruebas realizadas le serán entregados oportunamente.

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

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

**DECLARACIÓN DEL VOLUNTARIO:**

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

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

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

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

### CONSENTIMIENTO VALIDO

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

1.- Haber sido informado de manera objetiva, clara y sencilla, por parte de representantes del grupo de Investigadores del Departamento de Bioanálisis de la UDO núcleo Sucre y del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), coordinados por la Dra. Merlyn Vivenes y el Dr. Alvaro Rodríguez, de todos los aspectos relacionados al proyecto **“Asociación entre polimorfismos de los genes para la Leptina (LEP), el Receptor de la Lipoproteína de Baja Densidad (LDLR) y la Apolipoproteína A-IV (APOA-IV), con fenotipos relacionados a la obesidad en una muestra del Estado Sucre”**

2.- Tener conocimiento claro de que el objetivo fundamental del trabajo antes señalado es: Estudiar la asociación entre varias características hereditarias reportadas previamente en la literatura, con la obesidad, a fin de conocer las posibles causas de su aparición.

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

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

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

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

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

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

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

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

## **ANEXO 4**

## 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 Inflammatorias Crónicas, Infecciones Odontológicas, Intervenciones Quirúrgicas,  
Otros: \_\_\_\_\_

**CONSUMO DE TABACO:**

No Fuma  Ex fumador  Fumador

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

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

**CONSUMO DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS:**

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

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

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

**ACTIVIDAD FÍSICA:**

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

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

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

**HÁBITOS NUTRICIONALES:**

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

Nº Ficha: \_\_\_\_\_

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

**DATOS SOCIO-ECONÓMICOS:**

**1. Profesión del Jefe de Familia:**

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

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

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

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

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

**4. Calidad de la Vivienda:**

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

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

Nº Ficha: \_\_\_\_\_

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

**DATOS ANTROPOMÉTRICOS:**

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

**EXÁMENES DE LABORATORIO:**

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

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

Glóbulos Rojos: \_\_\_\_\_

Glóbulos Blancos: \_\_\_\_\_

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

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

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

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

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

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

Triglicéridos: \_\_\_\_\_

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

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

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

Índices Hematimétricos:

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

Riesgo Cardíaco:

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

Otros:

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

## ANEXO 5

Oligómeros utilizados para los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y *Xba* I intrón dos ubicados en el gen APO A-IV.

Gen y Polimorfismo	Oligómeros (5'→3') 1: Izquierdo; 2: Derecho	Tamaño del producto amplificado	Referencia
APO A-IV Tre347Ser y Gln360His (exón 3)	1:AGAAGTCACTGGCAGAGC 2:TCCTCAAGTTCATACCAGAA	435 pb	Oligómeros diseñados
APO A-IV <i>Xba</i> I (intrón 2)	1: TAGGATCCACATATGTAAAC 2: GTCTTTCTGAAACGTATTAG.	171 pb	Zaiou y cols., (1994a)

## ANEXO 6

Asignación de los genotipos, según los patrones de banda (pb) dados por el corte de las enzimas de restricción (tomado de los protocolos de la casa comercial New England).

Variantes genéticas	Enzima	Alelos según el corte		Homocigoto (+)	Heterocigoto	Homocigoto (-)
		(+)	(-)			
Tre347Ser	<i>Hinf</i> I	A (Tre)	T (Ser)	<b>242 + 193</b>	<b>435 + 242 + 193</b>	<b>435</b>
Gln360His	<i>Fnu</i> 4H I	G (Gln)	T (His)	<b>180+102+98+46+9</b>	<b>189+180+102+98+46+9</b>	<b>189+102+98+46</b>
<i>Xba</i> I	<i>Xba</i> I	+	-	<b>102+69</b>	<b>171+102+69</b>	<b>171</b>

Negritas = bandas de interés para reconocer los alelos.

## ANEXO 7

Frecuencias alélicas del polimorfismo Tre347Ser en varias poblaciones a escala

<b>Población</b>	<b>por</b>	<b>N</b>	<b>Tre (%)</b>	<b>Ser (%)</b>	<b>Referencia</b>
------------------	------------	----------	----------------	----------------	-------------------

mundial.

<b>continente</b>				
<b>Europeos</b>				
Alemania	289	84,00	16,00	Von Eckardstein y cols., 1992
Finlandia		79,00	21,00	Tenkanen y Ehnholm, 1992
Báltico	88	86,40	13,60	Fisher y cols., 1999
Reino Unido	79	78,50	21,50	Fisher y cols., 1999
Europa Media	114	77,20	22,80	Fisher y cols., 1999
Europa Sur	94	77,70	22,30	Fisher y cols., 1999
España				
-Valencia	63	84,13	15,87	Carmena-Ramón y cols., 1998
-Córdoba	41	78,05	21,95	Jansen y cols., 1997
-Córdoba	50	84,00	16,00	Osto y cols., 1998
Francia				
-Nancy	178	78,00	22,00	Zaiou y cols., 1994a
-Lille	1110	81,94	18,06	Dallongeville y cols. 2005
-Bas-Rhin	1059	80,17	19,83	Dallongeville y cols. 2005
-Haute-Garonne	1151	80,02	19,98	Dallongeville y cols. 2005
Reino Unido	529	79,00	21,00	Wong y cols., 2004
<b>Asiáticos</b>				
Japón	900	100,00	0,00	Bai y cols., 1996
India	176	87,80	12,20	Saha y cols., 1997
China		100,00	0,00	Bai y cols., 2008
<b>Americanos</b>				
Texas				
-Houston	51	78,40	21,60	Boerwinkle y cols., 1990
-San Antonio	509	85,60	14,40	Hixson y Powers 1991
Brasil				
-Rio Grande del Sur	391	83,00	17,00	Fiegenbaum y Hutz, 2003
-Pernambuco	414	85,90	14,10	De Franca y cols., 2005

## ANEXO 8

Frecuencias genotípicas del polimorfismo Tre347Ser en varias poblaciones a escala mundial.

Población continente	por	Tre/Tre (%)	Tre/Ser (%)	Ser/Ser (%)	Referencia
<b>Europeos</b>					
Francia					
-Nancy		60,00	37,00	3,00	Zaiou y cols., 1994a
-Lille		67,30	29,30	3,40	Dallongeville y cols., 2005
-Bas-Rhin		63,70	32,90	3,40	Dallongeville y cols., 2005
-Haute-Garonne		63,80	32,50	3,30	Dallongeville y cols., 2005
España					
-Valencia		69,84	28,57	1,59	Carmena-Ramón y cols., 1998
-Córdoba		60,97	34,15	4,88	Jansen y cols., 1997
-Córdoba		72,00	24,00	4,00	Osto y cols., 1998
Reino Unido		60,68	36,48	2,84	Wong y cols., 2004
Grecia		59,00	33,00	8,00	Miltiadous y cols., 2002
<b>Asiáticos</b>					
India		77,80	19,90	2,30	Saha y cols., 1997
<b>Americanos</b>					
Louisiana		66,60	30,20	3,30	Lefevre y cols., 2000
Brasil					
-Pernambuco		74,60	22,60	2,80	De Franca y cols., 2005

## ANEXO 9

Frecuencias alélicas del polimorfismo Gln360His en varias poblaciones del mundo.

Población continente	por	N	Gln (%)	His (%)	Referencia
<b>Europeos</b>					
Finlandia		387	94,20	5,80	Lukka y cols., 1988
Austria		473	91,80	7,70	Menzel y cols., 1988
Holanda		1393	90,10	7,90	De Knijff y cols., 1988
Islandia		185	88,00	11,70	Menzel y cols., 1990
Finlandia		193	95,10	4,90	Ehnholm y cols., 1994
Gran Bretaña		114	93,00	7,00	Ehnholm y cols., 1994
Europa-Norte		315	91,40	8,60	Ehnholm y cols., 1994
Europa-Media		328	93,00	7,00	Ehnholm y cols., 1994
Europa-Sur		311	89,50	10,5	Ehnholm y cols., 1994
Nancy-Francia		232	92,00	8,00	Zaiou y cols., 1994a
Valencia-España		67	88,06	11,94	Carmena-Ramon y cols., 1998
Córdoba-España		51	89,22	10,78	
Báltico EARS II		88	92,1	7,90	Fisher y cols., 1999
Reino Unido EARS		79	87,9	12,1	Fisher y cols., 1999
Europa –Media EARS II.		114	94,2	5,8	Fisher y cols., 1999
Europa-Sur EARS II		94	95,00	5,00	Fisher y cols., 1999
Grecia			96,00	4,00	Miltiadous y cols. 2002
<b>Africanos</b>					
Nigeria		171	89,40	3,00	Sepehrnia y cols., 1988
<b>Asiáticos</b>					
Nueva Delhi-India		176	97,20	2,80	Saha y cols., 1997
<b>Oceanía</b>					
Australia		186	91,70	8,30	Heilbronn y cols., 2000
<b>Americanos</b>					
Caucásicos EE.UU		159	90,90	8,80	Kamboh y Ferrell, 1987
Afroamericanos		127	96,10	3,50	Kamboh y Ferrell, 1987
San Antonio-Texas		509	95,5	3,40	Hixson y Powers, 1991
México-Américanos		331	92,80	6,60	Hanis y cols., 1991
EE.UU		153	90,52	9,48	Mata y cols., 1994
Framingham		2322	93,20	6,80	Cendoroglo y cols., 2005
<b>Brasil</b>					
-Rio Grande del Sur		391	94,00	6,00	Fiegenbaum y Hutz, 2003
-Pernambuco		414	97,20	2,80	De Franca y cols., 2005

## ANEXO 10

Frecuencias genotípicas del polimorfismo Gln360His en varias poblaciones del mundo.

<b>Población continente</b>	<b>por</b>	<b>Gln/Gln (%)</b>	<b>Gln/His (%)</b>	<b>His/His (%)</b>	<b>Referencia</b>
<b>Europeos</b>					
Finlandia		88,63	11,11	0,26	Lukka y cols., 1988
Austria		84,60	14,2	0,40	Menzel y cols., 1988
Holanda		80,90	14,36	0,71	De knijff y cols., 1988
Finlandia		90,67	8,81	0,52	Ehnholm y cols., 1994
Gran Bretaña		86,84	12,28	0,88	Ehnholm y cols., 1994
Europa-Norte		83,81	15,24	0,95	Ehnholm y cols., 1994
Europa-Media		86,89	12,20	0,91	Ehnholm y cols., 1994
Europa-Sur		80,71	17,68	1,61	Ehnholm y cols., 1994
Nancy-Francia		84,00	16,00	0,00	Zaiou y cols., 1994a
Valencia-España		76,12	23,88	0,00	Carmena-Ramon y cols., 1998
Córdoba-España		82,40	13,70	3,90	Ostos y cols., 2000
Grecia		94,00	6,00	0,00	Miltiadous y cols. 2002
<b>Africano</b>					
Nigeria		80,70	0,58	0,00	Sepehrnia y cols., 1988
<b>Asiático</b>					
Nueva Delhi-India		94,30	5,70	0,00	Saha y cols., 1997
<b>Oceanía</b>					
Australia		91,67	8,33	0,00	Heilbronn y cols., 2000
<b>Americanos</b>					
Caucásicos EE.UU		82,40	16,30	0,60	Kamboh y Ferrell, 1987
Afroamericanos		92,10	7,10	0,00	Kamboh y Ferrell, 1987
México-América		85,80	12,99	0,00	Hanis y cols., 1991
EE.UU		81,00	19,00	0,00	Mata y cols., 1994
Louisiana		85,70	13,80	0,50	Lefevre y cols., 2000
Framingham		87,10	12,20	0,70	Cendoroglo y cols., 2005
<b>Brasil</b>					
-Rio Grande del Sur		89,01	10,99	0,00	Fiegenbaum y Hutz, 2003
-Pernambuco		94,40	5,60	0,00	De Franca y cols., 2005

---

---

## ANEXO 11

Frecuencias alélicas del polimorfismo *Xba* I intrón dos, en varias poblaciones del mundo.

<b>Población continente</b>	<b>por</b>	<b>N</b>	<b>X*1 (%)</b>	<b>X*2 (%)</b>	<b>Referencia</b>
<b>Europeos</b>					
Bélgica		162	84,00	16,00	Paul-Hayase y cols., 1992
Francia		226	79,00	21,00	Zaiou y cols., 1994a
<b>Americanos</b>					
Brasil		391	82,00	18,00	Fiegenbaum y Hutz, 2003

## ANEXO 12

Frecuencias genotípicas del polimorfismo *Xba* I intrón dos, en varias poblaciones del mundo.

<b>Población por continente</b>	<b>X*1/X*1 (%)</b>	<b>X*1/X*2 (%)</b>	<b>X*2/X*2 (%)</b>	<b>Referencia</b>
<b>Europeo</b>				
Bélgica	77,62	13,99	9,09	Paul-Hayase y cols., 1992
Francia	61,00	35,00	4,00	Zaiou y cols., 1994a

### ANEXO 13

Ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) a partir de las frecuencias genotípicas, realizando la prueba de chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) (Reed y Schull, 1968).

Genotipos	Valores observados relativos	Valores esperados relativos (Hardy-Weinberg)	Valores observados absolutos	Valores observados absolutos (Hardy-Weinberg)	chi-cuadrado ( $\chi^2$ )
<b>Codón 347</b>					
Tre/Tre	0,8272	$p^2$ 0,834	67	67,5	0,0037
Tre/Ser	0,1728	$2pq$ 0,157	14	12,7	0,1290
Ser/Ser	0,0000	$q^2$ 0,007	0	0,6	0,6000
Total	1,0000	1,000	81	81,0	0,7327
<b>Codón 360</b>					
Gln/Gln	0,90	$p^2$ 0,902	72	72,2	0,0005
Gln/His	0,10	$2pq$ 0,095	8	7,6	0,0200
His/His	0,00	$q^2$ 0,002	0	0,2	0,2000
Total	1,00	1,000	80	80,0	0,2205
<b>Xba I</b>					
X*1/X*1	0,8272	$p^2$ 0,834	67	67,5	0,0037
X*1/X*2	0,1728	$2pq$ 0,157	14	12,7	0,1290
X*2/X*2	0,0000	$q^2$ 0,007	0	0,6	0,6000
Total	1,0000	1,000	81	81,0	0,7327

## HOJA DE METADATOS

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

<b>Título</b>	ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS MONONUCLEOTÍDICOS UBICADOS EN EL GEN QUE CODIFICA PARA LA APOLIPOPROTEÍNA A-IV EN INDIVIDUOS QUE ASISTEN AL BANCO DE SANGRE DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO “ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ” CUMANÁ, ESTADO SUCRE
---------------	--

### Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Prada Velásquez, Annibelis Trinidad	CVLAC	17408566
	e-mail	anniprada@hotmail.com
	e-mail	
	e-mail	
	e-mail	

### Palabras o frases claves:

Polimorfismo
Apolipoproteína A-IV
Tre347Ser
Gln360His
Xba I intrón dos

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

<b>Título</b>	ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS MONONUCLEOTÍDICOS UBICADOS EN EL GEN QUE CODIFICA PARA LA APOLIPOPROTEÍNA A-IV EN INDIVIDUOS QUE ASISTEN AL BANCO DE SANGRE DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO “ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ” CUMANÁ, ESTADO SUCRE
---------------	--

### Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

### Resumen (abstract):

Se evaluaron las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos Tre347Ser, Gln360His y *Xba* I intrón dos, ubicados en el gen que codifica para la apolipoproteína A-IV; algunos parámetros bioquímicos (colesterol total, triglicéridos, HDL-c, LDL-c, VLDL-c y glicemia) y antropométricos (Índice de Masa Corporal e Índice Cintura Cadera) y su posible asociación con los genotipos encontrados para cada uno de los sistemas. La muestra estuvo conformada por 81 individuos que asistieron al banco de Sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, nacidos en el estado Sucre, no relacionados biológicamente y con padres y abuelos nacidos en la misma entidad. El 46,91% (n=38) de la muestra eran de sexo masculino y 53,09% (n=43) femenino, con edades comprendidas entre los 18 y 45 años. El análisis molecular se realizó empleando la técnica de PCR-RFLP. El polimorfismo Tre347Ser mostró frecuencias alélicas de 91,40% para el alelo Tre347 y 8,60% para Ser347; el genotipo más frecuente fue el homocigoto Tre/Tre (82,72%), seguido de los heterocigotos Tre/Ser (17,28%), no se encontraron homocigotos Ser/Ser. Las frecuencias alélicas de Gln360His fueron 95,00% Gln360 y 5,00% His360; las distribuciones genotípicas fueron 90,00% Gln/Gln, 10,00% Gln/His y ausencia de His/His. Con respecto a *Xba* I intrón dos, las frecuencias de alelo X\*1, caracterizado por la presencia del sitio de corte para la enzima *Xba* I fue mayor (91,40%) en comparación con la del alelo X\*2 (8,60%), que carece de la secuencia de reconocimiento para esta enzima; en este sistema el genotipo más común fue el X\*1/X\*1 (82,72%) y en menor proporción el X\*1/X\*2 (17,28%), no se encontraron homocigotos X\*2/X\*2. La población analizada mostró estar en equilibrio de Hardy-Weinberg. No se encontraron diferencias significativas entre los parámetros bioquímicos, antropométricos y los genotipos de cada uno de los polimorfismos estudiados. La información recopilada en las encuestas, señala que el 9,87% de los individuos presentan antecedentes familiares para el padecimiento de enfermedades metabólicas, 11,11% han fumado y un 8,64% consumen bebidas alcohólicas de manera semanal, además se encontró que el 35,80% no practican ninguna actividad física, por lo que el sedentarismo es predominante en este grupo. Con respecto a los hábitos nutricionales, se pudo observar que existe un aumento en la ingesta de grasas, desencadenando un desmejoramiento en el estado nutricional. Los datos obtenidos de la muestra estudiada constituyen un aporte al conocimiento de la variabilidad molecular de los individuos del estado Sucre y ponen de manifiesto factores genéticos y ambientales que pueden aumentar el riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles en este grupo poblacional.

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

**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 checked="" type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLA C	8641870
	e-mail	merlynvivenes@hotmail.com
	e-mail	

**Fecha de discusión y aprobación:**

Año	Mes	Día
2011	06	06

Lenguaje: spa \_\_\_\_\_

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

**Archivo(s):**

<b>Nombre de archivo</b>	<b>Tipo MIME</b>
<b>Tesis-Prada A.doc</b>	<b>Application/Word</b>

**Alcance:**

**Espacial:** Nacional \_\_\_\_\_ (Opcional)

**Temporal:** Temporal \_\_\_\_\_ (Opcional)

**Título o Grado asociado con el trabajo:**

Lcda. Bioanálisis \_\_\_\_\_

**Nivel Asociado con el Trabajo:** Licenciado \_\_\_\_\_

**Área de Estudio:** Bioanálisis \_\_\_\_\_

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

Universidad de Oriente \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

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

**Derechos:**

**Yo Annibelis Prada como autora intelectual de esta tesis le doy el derecho a la Universidad de Oriente para divulgar esta tesis siempre y cuando resguardando la patente de industria y comercio si se diera el caso**

  
Annibelis Prada  
AUTOR 1

  
Merilyn Vivenes  
TUTOR

  
Sonia Nusetti  
JURADO 1

  
Raquel Salazar  
JURADO 2

**POR LA COMISIÓN DE TESIS:**

  
Elsa Salazar

