



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

SITIOS DE RESTRICCIÓN POLIMÓRFICOS *TaqI*, *HincII* Y *AvaII* UBICADOS EN
EL GEN QUE CODIFICA PARA EL RECEPTOR DE LA LIPOPROTEINA DE
BAJA DENSIDAD (LDLR), EN INDIVIDUOS DEL ESTADO SUCRE
(Modalidad: Tesis de Grado)

EUDYS DEL VALLE CAMPOS MALAVÉ

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

CUMANÁ, 2011

SITIOS DE RESTRICCIÓN POLIMÓRFICOS *TaqI*, *HincII* Y *AvaII* UBICADOS
EN EL GEN QUE CODIFICA PARA EL RECEPTOR DE LA LIPOPROTEINA
DE BAJA DENSIDAD (LDLR), EN INDIVIDUOS DEL ESTADO SUCRE

APROBADO POR:



Prof. Meryn Vivenes
Asesora



Prof. Sonia Nusetti
Jurado



Prof. Gilda Millán
Jurado

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE	iii
LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN.....	v
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	10
Población a estudiar	10
Toma de muestra.....	10
Extracción del ADN.....	11
Amplificación del ADN	12
Digestión con enzima de restricción	13
Determinación de los parámetros antropométricos.....	14
Determinación de los parámetros bioquímicos	15
Glucosa	15
Triglicéridos.....	15
Colesterol total.....	16
HDL-colesterol	16
LDL-colesterol.....	17
Determinación de los niveles séricos de VLDL-colesterol	17
Análisis estadístico.....	18
RESULTADOS.....	19
DISCUSIÓN	27
CONCLUSIONES	43
RECOMENDACIONES	45
BIBLIOGRAFÍA	46
ANEXOS	57
HOJA DE METADATOS	79

DEDICATORIA

A

Mis padres por sus oraciones y palabras de aliento en los momentos en que más las necesité. Los amo.

Mis hermanos Elvis y Elisa y a mi cuñada María Virginia por el apoyo brindado, incentivos, preocupación y cariño.

Mis sobrinos Yonaiker y Gerardo José por alegrarme la vida.

Mi familia por sus bendiciones, afecto y por estar pendientes de mí.

Annibelis Prada y Jhonilys Navarro por su valiosa amistad, por ser mi sostén y consejeras, por los momentos vividos durante mucho tiempo y por abrirme sus corazones. Son y seguirán siendo mis amigas y parte de mi familia.

*“El camino es el que nos enseña la mejor forma de llegar y nos enriquece mientras lo
estamos cruzando”
Pablo Coelho*

AGRADECIMIENTOS

A

Dios por iluminarme el camino y por darme fortaleza para permitir llegar hasta donde estoy. Gracias mi Señor por tu misericordia y bendiciones de cada día.

La profesora Merlyn Vivenes por su rol de asesora y amiga durante mi recorrido académico, además de su apoyo y dedicación para hacer posible esta meta.

Al personal del Banco de Sangre y del Laboratorio General del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, por su inmensa colaboración durante la recolección de las muestras, y por el uso de los equipos para el análisis de las mismas. De igual manera, a la Nutricionista Luzmila Ramírez por su apreciable tiempo y cooperación para la toma de las medidas antropométricas de los pacientes.

Al Instituto Venezolano de Investigación Científica (IVIC) por abrirme las puertas de sus instalaciones para el procesamiento de las muestras necesarias para la realización de este trabajo.

Al personal del Laboratorio de Genética Humana del IVIC, en especial a los Dr(s) Álvaro Rodríguez y Dinorah Castro de Guerra por ser los pioneros en la realización de este tipo de investigación en Venezuela. Del mismo modo, a la Dra. Irene Paradisi y a la M.Sc. Greta Rodríguez por su valioso aporte en la estandarización de los protocolos de PCR y digestiones enzimáticas. Así como, a las licenciadas Yanireth, Vicky, Maytte, Mireya, Neida, Mary Helen, Cristina y al Sr. Luis José por su cooperación, cordialidad, consejos y por hacerme sentir en casa. Gracias a todos.

A los profesores Sorana Yegres, Leonor Mora, Olga Bianchi y Miguel Campos, por los conocimientos brindados, motivación, confianza y por su amistad a lo largo de mi carrera. Mi más sincero respeto.

A mis amigos Clemylse, Fernando, Oriana, Luis Guillermo, Margy, Linescar, Virginia y Yaiza, por su amistad sincera y momentos compartidos. También, a Liomer Bermúdez y Darcys Marquett por su ayuda incondicional en todo momento. Se les quiere.

A la familia Velásquez, la familia González Mago, González González y a la Sra. Elena, por su amistad, solidaridad, confianza y por hacerme parte de ellos.

A mis padres por su dedicación y apoyo en todo momento. Muchas Gracias.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Distribución porcentual de la muestra poblacional perteneciente al estado Sucre, por género, enero-marzo 2010.	19
Tabla 2. Distribución de las frecuencias alélicas de los sitios de restricción polimórficos TaqI, HincII y AvaII, ubicados en el gen que codifica para el receptor de la lipoproteína de baja densidad (gen LDLR) de la muestra poblacional perteneciente al estado Sucre, enero-marzo 2010.	19
Tabla 3. Distribución genotípica de los sitios de restricción polimórficos TaqI, HincII y AvaII, ubicados en el gen que codifica para el receptor de la lipoproteína de baja densidad (gen LDLR), de la muestra poblacional perteneciente al estado Sucre, enero-marzo 2010.	20
Tabla 4. Parámetros bioquímicos y antropométricos en la muestra poblacional del estado Sucre según el sexo, enero-marzo 2010.	21
Tabla 5. Parámetros bioquímicos y antropométricos en la muestra perteneciente al estado Sucre, según los genotipos del sitio polimórfico TaqI, enero-marzo 2010.	22
Tabla 6. Parámetros bioquímicos y antropométricos en la muestra poblacional del estado Sucre, clasificados de acuerdo con los genotipos del sitio polimórfico HincII, enero-marzo 2010.	23
Tabla 7. Parámetros bioquímicos y antropométricos en la muestra perteneciente al estado Sucre, distribuidos según los genotipos del sitio polimórfico AvaII, enero-marzo 2010.	23
Tabla 8. Factores de riesgo para padecer enfermedades crónicas no transmisibles, evaluados en los individuos en estudio perteneciente al estado Sucre, enero-marzo de 2010.	24

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Gel de poliacrilamida al 12% donde se observan las bandas que describen los genotipos del sitio de restricción polimórfico TaqI, ubicado en el gen que codifica para el receptor de la lipoproteína de baja densidad (gen LDLR). 25
- Figura 2. Gel de poliacrilamida al 12% donde se observan las bandas que identifican los genotipos del sitio de restricción polimórfico HincII, ubicado en el gen que codifica para el receptor de la lipoproteína de baja densidad (gen LDLR). 26
- Figura 3. Gel de poliacrilamida al 10% donde se muestran las bandas que describen los genotipos del sitio de restricción polimórfico AvaII, ubicado en el gen que codifica para el receptor de la lipoproteína de baja densidad (gen LDLR). 26

RESUMEN

Se analizaron los sitios de restricción polimórficos *TaqI*, *HincII* y *AvaII* ubicados en el gen que codifica para el Receptor de las Lipoproteínas de Baja Densidad. El estudio quedó conformado por un total de 81 individuos, de los cuales el 53,09% (n=43) correspondía al sexo femenino y el 46,81% (n=38), masculino. Todos los individuos eran aparentemente sanos, nacidos en el estado Sucre, con padres y abuelos autóctonos del mismo lugar. Las muestras se analizaron mediante la técnica de PCR-RFLP. Se determinaron las frecuencias alélicas y genotípicas por contaje directo y se analizó el ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg, mediante la prueba de Ji-cuadrado (χ^2). Se compararon los promedios de los valores de glicemia, triglicéridos, colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, VLDL-colesterol; así como también los parámetros antropométricos índice de masa corporal e índice de cintura-cadera; clasificados según los genotipos de cada sitio polimórfico, aplicando la prueba ANOVA. Se observó que *TaqI* presentó una mayor frecuencia de la ausencia del sitio de corte (-), alelo A (89,00%), en comparación con la presencia del mismo (+), alelo G (11,00%), y mostró unas frecuencias genotípicas de A/A=79,01% (n=64), G/A=19,75% (n=16) y G/G=1,24% (n=1). Para *Hinc II* se encontró una frecuencia mayor del sitio de corte (+), alelo T (72,00%), en relación a la ausencia de dicho corte (-), alelo C (28,00%); con frecuencias genotípicas de T/T=53,08% (n=43), T/C=9,88% (n=8) y C/C=9,88% (n=8). Por su parte, *AvaII* mostró mayor proporción para la ausencia del sitio de restricción (-) o alelo T (61,00%), que para la presencia (+) del mismo, alelo C (39,00%); mostrando frecuencias genotípicas de C/T=44,44% (n=36), T/T=38,27% (n=31) y C/C=17,28% (n=14). La población estudiada se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg, en relación a cada uno de los sitios de restricción polimórficos analizados. No se encontró asociación de los parámetros bioquímicos y antropométricos con los genotipos de cada sistema, a excepción de los niveles de triglicéridos y VLDL-c, que presentaron diferencias significativas ($p<0,05$); según los genotipos de *AvaII*. Con respecto a la información recopilada en las encuestas, el 9,87% de los individuos presentó antecedentes familiares en relación de ciertas enfermedades crónicas no transmisibles, el 11,11% informaron ser fumadores y exfumadores. El 77,78% reportó ser consumidores de bebidas alcohólicas. El 35,00% de los individuos no practicaban actividad física, además presentaron un aumento en el consumo de grasas y carbohidratos, con disminución en el ingesta de proteínas.

INTRODUCCIÓN

Las lipoproteínas son macromoléculas formadas por una fracción proteica denominada apolipoproteínas (Apo) y una fracción lipídica, y su función consiste en solubilizar y transportar los lípidos en el plasma. Entre éstas se encuentran las Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL, del inglés Low Density Lipoprotein), compuestas por colesterol esterificado (42,00%), fosfolípidos (23,00%), proteínas (20,00%), principalmente Apo B₁₀₀, triglicéridos, también llamados triacilglicéridos (10,00%) y colesterol libre (5,00%). De todas las lipoproteínas, las LDL, son las que poseen mayor proporción de colesterol, siendo las principales transportadoras del mismo (Díaz y Fernández, 1996; Boronat y cols., 2005, Arráiz, 2007).

Numerosos estudios clínicos y epidemiológicos han señalado que las concentraciones elevadas de colesterol por tiempo prolongado, están implicadas en la formación de placas ateroscleróticas, que son importantes factores de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares, de allí el gran esfuerzo por tratar de entender los mecanismos involucrados en la captación celular del colesterol, demostrándose la existencia de receptores que participan en estos procesos, conocidos como receptores de LDL (LDLr). La mayoría de los avances en este aspecto, se deben a estudios realizados en individuos con hipercolesterolemia familiar (HF), un trastorno genético con un patrón de herencia autosómico dominante, que se caracteriza clínicamente por niveles elevados de colesterol total (300,00 - 1 200,00 mg/dl) a expensas del LDL-colesterol (LDL-c), conocido también como colesterol malo (Gordon y cols., 1981; Vella, 1992).

El mantenimiento del colesterol plasmático en concentraciones apropiadas y su distribución en los tejidos, dependen en gran medida, del mecanismo normal de captación de los receptores LDLr, los cuales intervienen en el catabolismo de las

LDL que se produce en un 75,00% en el hígado. A este nivel ocurre principalmente el reconocimiento de las Apo B₁₀₀, promoviendo la internalización de las LDL en la célula, a través de un proceso de endocitosis; que estimula la formación de vesículas revestidas por una proteína denominada clatrina, la cual forma un entramado estructural, permitiendo la captura de las partículas lipoproteicas. Posteriormente, se forman endosomas que, al fusionarse con los lisosomas, provocan la liberación del LDLr y finalmente su retorno a la superficie celular. Las partículas de LDL separadas del receptor, son degradadas por enzimas ácidas hidrolíticas lisosomales. La Apo B₁₀₀ de las LDL es hidrolizada por proteasas generando aminoácidos, mientras que los ésteres de colesterol son hidrolizados por la enzima colesterol esterasa, originando colesterol libre para ser utilizado por la célula en la síntesis de membranas, ácidos biliares en el hepatocito y hormonas esteroideas, en tejidos esteroideogénicos (Díaz y Fernández, 1996; Goldstein y cols. 2001; Devlin, 2004; Arráiz, 2007).

El colesterol libre, se dirige al citosol donde inhibe la actividad de la enzima 3-hidroxi 3-metilglutamil CoA reductasa (HMG-CoA reductasa) con la finalidad de detener la síntesis del mismo y activar simultáneamente la enzima acil-CoA colesterol acil transferasa (ACAT) del retículo endoplasmático, encargándose de promover la formación de ésteres de colesterol. La acumulación de colesterol intracelular inhibe finalmente, la reposición de receptores de la LDL en la superficie celular, por lo que queda bloqueada la posterior captación y acumulación de este lípido (Anexo 1) (Díaz y Fernández, 1996; Goldstein y cols. 2001; Pocoví y Castillo, 2002; Devlin, 2004).

El LDLr es una glucoproteína con una masa molecular de aproximadamente 160 000 M_r, que se expresa en la superficie de la mayoría de las células, especialmente en el hígado. Dos propiedades que caracterizan a este receptor, son su alta afinidad por las LDL y su capacidad para reciclarse varias veces en la célula; permitiendo que grandes cantidades de colesterol se entreguen a los tejidos corporales y manteniendo, simultáneamente, las concentraciones de LDL suficientemente bajas

en la sangre para evitar la acumulación de placas ateroscleróticas. Cuando los LDLr son deficientes, la tasa de eliminación de LDL disminuye en el plasma, y su nivel aumenta en proporción inversa al número de receptores (Brown y Goldstein, 1986; Goldstein y cols., 2001; Arráiz, 2007; Kathiresan y cols., 2008; Sandhu y cols., 2008; Willer y cols., 2008).

Russell y cols. (1983) y Yamamoto y cols. (1984), purificaron el LDLr y clonaron el ADN, posteriormente, Südhof y cols. (1985) aislaron y caracterizaron el gen. Estos avances sentaron las bases para el análisis molecular de las mutaciones que ocasionan la HF. El gen que codifica para la Lipoproteína de Baja Densidad designado como gen LDLR, posee un tamaño de 45 kilobases (kb), está localizado en el brazo corto del cromosoma 19, en la región p13.1-p13.3, y consta de 18 exones separados por 17 intrones (Anexo 2). Aproximadamente, la mitad del ARNm constituye una larga región 3' no traducida que contiene tres copias de la familia *Alu* de ADN repetitivo (Russell y cols., 1983; Yamamoto y cols., 1984; Südhof y cols., 1985; Hobbs y cols., 1990; Hobbs y cols., 1992; Pocoví y Castillo, 2002).

El gen LDLR codifica seis dominios de la proteína LDLr, el exón 1 expresa el dominio señal de 21 aminoácidos hidrofóbicos, que es hidrolizado en el retículo endoplasmático, para dar lugar a la proteína madura de 839 aminoácidos. Los exones 2 al 6 forman el dominio de unión al ligando, que permite mediar la interacción con la Apo B₁₀₀. Del 7 al 14, codifican la región homóloga al precursor del factor de crecimiento epidérmico (EGF), que es necesario para posicionar al segundo dominio y así poder unirse a la Apo B₁₀₀; además de permitir la disociación del receptor de las LDL en el endosoma durante el reciclaje de dicho receptor. El 15 codifica la región que une azúcares y su función es desconocida; el 16 y la primera mitad del 17 corresponden al dominio transmembrana y permite el anclaje de la proteína. El resto del exón 17 y la zona 5' del 18 expresan la región citoplasmática, la cual es importante para la localización del LDLr en las invaginaciones recubiertas de la

proteína clatrina en la membrana plasmática (Anexo 3). Las alteraciones dentro de estos dominios dan lugar a proteínas mutantes cuya estructura y función se ven afectadas en diferentes formas. Las variaciones detectadas en el gen LDLR están distribuidas en toda su extensión, sin embargo existe un predominio de eventos mutacionales en los exones 3, 4 y 9 (Hobbs y cols., 1990; Hobbs y cols., 1992; Pocoví y Castillo, 2002).

La clonación del gen que codifica para el LDLr y el análisis de la secuencia del ADN, han permitido identificar cinco clases de mutaciones que alteran la función del receptor y su metabolismo en el ser humano. La clase I afecta la síntesis del LDLr, con producción escasa o ausencia total del mismo. En la clase II el receptor se sintetiza de manera inadecuada, lo que interfiere en el proceso de transporte al retículo endoplasmático y al aparato de Golgi, para su posterior movilización a las membranas citoplasmáticas. En la clase III las proteínas son sintetizadas y transportadas a la superficie celular de forma normal, sin embargo, carecen de la capacidad de unir a las partículas de LDL. La clase IV codifican proteínas que unen LDL normalmente, no obstante, son incapaces de agruparse en vesículas recubiertas de clatrina y por tanto, no internalizan las LDL unidas. Finalmente, las mutaciones clase V afectan la liberación del receptor de la LDL en el endosoma, lo que impide que se reciclen a la superficie celular (Anexo 4) (Hobbs y cols., 1990; Pocoví y Castillo, 2002; Ribas, 2008).

Se han detectado más de 900 mutaciones diferentes que afectan la función normal del LDLr en el metabolismo de las lipoproteínas y su número sigue en aumento. En pacientes con HF se han descrito deleciones, inserciones, grandes reordenamientos; no obstante, la mayoría de los defectos se deben a mutaciones puntuales que afectan una sola base nitrogenada, produciendo un cambio en el código para el aminoácido correspondiente. Existen mutaciones de este tipo, que aunque no producen

la patología, pueden modular la expresión de la misma, por su cercanía con la alteración molecular causante. Estas variaciones en la secuencia del ADN, cuando alcanzan valores superiores al 1,00% se denominan polimorfismos mononucleotídicos (SNPs, del inglés Single Nucleotide Polymorphism) y, dependiendo de su frecuencia, pueden convertirse en útiles marcadores poblacionales. Cuando las mutaciones puntuales coinciden con secuencias nucleotídicas que son sitios de reconocimiento y corte para una enzima de restricción específica, se trata de polimorfismos de fragmentos de restricción de longitud variable (RFLPs, del inglés Restriction Fragment Length Polymorphism), cuya prevalencia varía ampliamente entre grupos poblacionales (Hobbs y cols., 1992; Sun y cols., 1992; Wu y cols., 1995; Varret y cols., 1998; Wang y cols., 1998; Zheng y cols., 2009).

El hecho de que diversos alelos causen la clásica HF, plantea la posibilidad de que la heterogeneidad molecular dentro del gen LDLR también puede contribuir a la variación en los niveles de colesterol en la población normocolesterolémica. Numerosos estudios han tratado de relacionar la variabilidad normal del LDLR y los rasgos lipídicos, reportándose varios RFLPs, dentro y cerca del gen, que abarcan una distancia total de 62,80 kb, y se extienden desde 10,00 kb en dirección 5' del exón 1 hasta una región de 13,00 kb en dirección 3' del exón 18 (Hobbs y cols., 1990; Hobbs y cols., 1992; Goldstein y cols., 2001).

Entre los sitios de restricción más estudiados se encuentran el polimorfismo *TaqI*, ubicado en el intrón 4 del gen, caracterizado por una sustitución de la base nitrogenada adenina por guanina; además de los sitios *HincII* y *Avall*, que están localizados dentro de la región codificante del exón 12 y 13, respectivamente y, presentan una sustitución nucleotídica de timina por citosina. También se han estudiado los sitios *MspI*, *NcoI*, *PvuII*, *ApaLI*

(5'), *ApalI* (3'), *Apall* y *Stul*. Todos estos polimorfismos son producidos por mutaciones puntuales que no cambian la secuencia de los aminoácidos (Anexo 5) (Geisel y cols., 1987; Hobbs y cols., 1987; Kotze y cols., 1987; Yamakawa y cols., 1987; Leitersford y Hobbs, 1988; Hobbs y cols., 1990).

Los sitios de restricción *TaqI*, *HincII* y *Avall* han sido analizados conjuntamente en varias poblaciones europeas y aunque en menor proporción, también existen reportes en individuos de Suráfrica, Asia y América (Kotze y cols. 1989; Miserez y cols., 1993; Mattevi y cols., 2000). Algunos autores han asociado estos RFLPs, con enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), como la HF, obesidad, hipertensión y enfermedades cardiovasculares (Ahn y cols., 1994; Boright y cols., 1998; Salazar y cols., 1999; Fu y cols., 2001, Guo y cols., 2002; Zhu y cols., 2007).

Varios estudios han señalado las frecuencias del sitio polimórfico *TaqI* en poblaciones europeas (8,00-33,70%), africanas (3,60%), asiáticas (46,50-51,20%) y americanas (10,00-25,00%); éste ha sido considerado como un marcador genético informativo en familias japonesas con HF (Kotze y cols., 1989; Yamakawa y cols., 1991; Chaves y cols., 1996; Haviland y cols., 1997; Mattevi y cols., 2000; Chae y cols., 2001). Se ha reportado que, el polimorfismo *HincII* es más común entre los caucásicos europeos (48,00-62,90%), mientras que en poblaciones asiáticas (16,80-86,2%) y americanas (45,00-90,00%) su frecuencia es variable; mostrando asociación con la obesidad, hipertensión y variaciones en los niveles lipídicos en algunas poblaciones. No se han encontrado reporte en el continente africano (Miserez y cols., 1993; Zee y cols., 1995; Boright y cols., 1998; Salazar y cols., 1999; Mattevi y cols., 2000; Nakazone y cols., 2009).

Por otra parte, el polimorfismo *Avall* manifiesta gran diversidad entre los

continentes europeo (6,30-49,00%), asiático (15,00-67,00%), africano (37,80-47,00%) y americano (36,00-76,00%) y su presencia también ha sido asociada con elevadas concentraciones de colesterol en plasma (Kotze y cols., 1989; Miserez y cols., 1993; Ahn y cols., 1994; Chaves y cols., 1996; Mattevi y cols., 2000; Nisha y cols., 2010).

Estudios realizados por Mattevi y cols. (2000), en cinco tribus amerindias de Brasil utilizando los sitios de restricción polimórficos *TaqI*, *HincII* y *Avall*, simultáneamente con *MspI* y *NcoI*, además de parámetros antropométricos, mostraron que todos los sitios de restricción, excepto *TaqI* presentaban asociación con la obesidad. Al igual que otras ECNT, la obesidad es considerada una enfermedad multifactorial cuya prevalencia sigue en aumento, llegando a convertirse en un grave problema de salud pública a escala mundial. Por esta razón, es importante hacer un diagnóstico certero de las condiciones de sobrepeso y obesidad de los individuos, para lo cual se deben emplear determinaciones antropométricas adecuadas. En este sentido, las más recomendadas son el índice de masa corporal (IMC), que refleja la obesidad general y el índice cintura-cadera (ICC), el cual es la medida de la grasa abdominal del cuerpo (Berdasco y cols., 2002; Cañete y Gil, 2007).

Reportes estadísticos alertan sobre la elevada prevalencia de esta patología. Al respecto, la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO), indicó para el año 2000 cifras de 13,00 a 15,00% en Europa (Aranceta y cols., 2000); mientras que, la OPS-OMS (2003), señaló más de un 15,00% en países latinoamericanos como Brasil, Argentina, Colombia, México, Paraguay, Cuba y Uruguay. En Venezuela, existen pocos estudios en adultos y no se reportan cifras concretas en el país. Particularmente, en el estado Bolívar se ha señalado altos índices de obesidad (85,00%), en

individuos de ascendencia española y de sobrepeso (8,00%) en indígenas Yaruros. La mayoría de las investigaciones realizadas al respecto, han sido en niños escolares con edades comprendidas entre 1 a 14 años, encontrándose frecuencias alarmantes de obesidad en escuelas públicas (3,60-12,60%) y privadas (32,10-37,70%) (Oviedo y cols., 2001; Díaz y cols., 2002; Solano y cols., 2005; Hernández y cols., 2007; Granado, 2008; Quijada y cols., 2008).

La asociación con variantes genéticas de predisposición, relacionada con la obesidad no han sido consideradas ampliamente. Estudios preliminares realizados por Rodríguez-Arroyo y cols. (2006; 2008), con polimorfismos en los genes de la Leptina y del LDLr en individuos del estado Sucre; sugieren que los mismos, pueden conferir susceptibilidad para el riesgo de padecer las enfermedades crónicas asociadas a la condición de sobrepeso/obesidad.

Los RFLPs pueden ser utilizados para identificar los alelos defectuosos, además de seguir la herencia de enfermedades en familias con análisis de ligamiento y permitir la pronta detección de enfermedades coronarias, con el fin de aplicar estrategias de intervención terapéutica temprana basadas en cambios en la dieta y en el estilo de vida, así como tratamientos farmacológicos para la prevención del desarrollo y/o reducción de eventos cardiovasculares prematuros. Por consiguiente, en esta investigación se llevó a cabo el estudio de las frecuencias alélicas y genotípicas de los sitios de restricción *TaqI*, *HincII* y *Avall* en individuos del estado Sucre, con la finalidad de conocer el acervo genético de la población estudiada; además de determinar parámetros bioquímicos como glicemia, triglicéridos, colesterol total, LDL-c, HDL-c y VLDL-c y parámetros antropométricos como IMC e ICC; con el propósito de analizar si existe asociación entre los polimorfismos y

estas determinaciones, que puedan conllevar al padecimiento de ECNT y ser de gran utilidad para investigaciones posteriores.

METODOLOGÍA

Población a estudiar

La muestra poblacional estudiada estuvo constituida por 81 individuos, 53,09% (n=43) de sexo femenino y 46,81% (n=38) masculino, que asistieron al Banco de Sangre del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (HUAPA), durante los meses de enero-marzo de 2010. Estos sujetos eran aparentemente sanos, nacidos en el estado Sucre, cuyas edades estuvieron comprendidas entre los 18 y 45 años, no emparentados, con padres y abuelos nacidos en la misma entidad. Con el propósito de formar parte de este estudio, a cada individuo se le entregó información sobre el proyecto de investigación, y firmaron voluntariamente un consentimiento válido que se efectuó bajo estrictas normas de ética médica (Anexo 6), establecidas en la declaración de Helsinki para la investigación en grupos humanos (Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, 2004). Se les realizó un cuestionario sobre sus datos personales, familiares, clínicos y habituales (Anexo 7); además, se les informó sobre los objetivos, métodos y procedimientos a utilizar en la investigación, así como la confidencia y discreción de la misma.

Toma de muestra

Se extrajeron 10,00 ml de sangre venosa, después de un ayuno previo de 12-14 horas. Cada muestra de sangre fue separada en dos tubos, se colocaron 5,00 ml en un tubo con 100,00 µl de la sal tetrasódica del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA-Na₄) al 15,00% como anticoagulante (Mckenzie, 2000); para luego ser transportadas a 4°C al Laboratorio de Genética Humana del Instituto Venezolano de Investigación Científica (IVIC), donde se procedió a la extracción, amplificación y digestión enzimática del fragmento de ADN. Los 5,00 ml restantes se colocaron en tubos sin

anticoagulantes y se utilizaron para el análisis del perfil lipídico y glicemia, que se realizó en el Laboratorio General del HUAPA.

Extracción del ADN

Para la obtención del material genético, se empleó el método de extracción salino descrito por Lahari y Nurnberger (1991), modificado en el Laboratorio de Genética Humana del IVIC. Se tomaron 5,00 ml de sangre completa, a los cuales se les agregaron 5,00 ml de reactivo TKM1, el cual se preparó de la siguiente manera: trisma/ácido clorhídrico (Tris/HCl), 10,00 mmol l⁻¹ a pH 7,60; cloruro de potasio (KCl), 10,00 mmol l⁻¹; cloruro de magnesio (MgCl₂), 10,00 mmol l⁻¹; sal disódica del EDTA, 2,00 mmol l⁻¹. Luego se agregaron 150,00 µl de Nonidet P-40 y se agitó fuertemente, se centrifugó a 800 g por un tiempo de 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, el cual se preparó de la siguiente manera: Tris/HCl, 10,00 mmol l⁻¹ a pH 7,60; KCl, 10,00 mmol l⁻¹; MgCl₂, 10,00 mmol l⁻¹; sal disódica del EDTA, 2,00 mmol l⁻¹; hidróxido de sodio (NaOH), 0,40 mmol l⁻¹. Se agitó y se transfirió a un tubo Eppendorf de 1,50 ml que contenía 55,00 µl de dodecil sulfato de sodio (SDS) al 10,00%. Después 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 agregaron 300,00 µl de NaCl 3,50 mol l⁻¹ a temperatura ambiente y se agitó fuertemente. Se centrifugó a 7 000 g, por 5 minutos a temperatura ambiente; luego se transfirió el sobrenadante a dos tubos que contenían alcohol absoluto frío (8°C) y se mezcló suavemente hasta que se observó la malla de fibrina, la cual se colocó en un vial con 1,00 ml de etanol al 70,00% y se guardó en la nevera a 8°C, hasta el momento de su uso.

Antes de utilizar el ADN, se centrifugó la muestra en una microcentrífuga a 7 000 g, por 5 minutos a temperatura ambiente y se eliminó el etanol. Se dejó secar completamente y se resuspendió en 0,30 ml de amortiguador (Tris/HCl, 10,00 mmol l⁻¹ con sal disódica del EDTA, 1,00 mmol l⁻¹ a pH 8,00). Finalmente, se colocó en baño de María a 65°C por 10 minutos, para disolver el ADN.

Amplificación del ADN

Para amplificar el ADN se utilizó la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés Polymerase Chain Reaction), utilizando el método descrito por Saiki y cols. (1988) con adaptaciones para un volumen de 15,00 µl. Para el sitio de restricción polimórfico *TaqI*, se emplearon oligómeros diseñados utilizando los programas Primer 3 y DNAMAN, sintetizados por la casa comercial Qiagen-Operon Technologies, Inc. Para *HincII* se utilizaron los oligómeros descritos por Leitersdorf y Hobbs (1988), y para *AvaII* los de Ahn y cols. (1994) (Anexo 8).

La mezcla de amplificación utilizada para los sitios de restricción polimórficos *TaqI* y *HincII* se preparó empleando 2,00 µl de los oligómeros 1 y 2 (1,00 mmol l⁻¹); 4,70 µl de agua bidestilada estéril; 0,10 µl de Taq ADN polimerasa (5,00 U/µl); 2,00 µl de ADN (100,00-300,00 µg/µl) y 4,20 µl de la mezcla de trabajo que contenía los 4 desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTPs), los iones de magnesio (Mg²⁺) y el amortiguador. Para *AvaII*, la mezcla de amplificación se preparó utilizando el mismo protocolo empleado para *TaqI* y *HincII*, exceptuando 3,00 µl de los oligómeros 1 y 2 (1,00 mmol l⁻¹) y 2,70 µl de agua bidestilada estéril (Anexo 8).

Se utilizó el termociclador marca MI Research, modelo PT-100 y se sometieron las muestras a las siguientes condiciones de amplificación: para los polimorfismos *TaqI* y *AvaII* la etapa inicial fue 94°C por 2 minutos; desnaturalización a 94°C por 30 segundos; hibridación a 60°C por 30 segundos; extensión a 73°C por 40 segundos; se

repetieron los pasos del dos al cuatro por 30 ciclos y una etapa final a 23°C por 5 minutos. Para *HincII* la etapa inicial fue 94°C por 5 minutos; desnaturalización a 94°C por 30 segundos; hibridación a 63°C por 1 minuto; extensión a 72°C por 40 segundos; se repitieron los pasos del dos al cuatro por 30 ciclos y una etapa final a 23°C por 5 minutos.

Para evidenciar el producto amplificado, se realizó una electroforesis en gel de poliacrilamida al 8,00%, con un amortiguador Tris-EDTA a pH 8,10, usando una cámara de electroforesis marca Sigma Chemical modelo 235 280-2. Se realizó una precorrida 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 voltios (V) y 25 miliampere (mA) por 2 horas. Una vez finalizada la corrida, se colocó el gel en una solución fijadora de etanol al 10,00% y ácido acético al 0,50%; luego se colocó en nitrato de plata al 0,30% y finalmente, se reveló con una solución de hidróxido de sodio 1,50% y formaldehído 0,40% (Jung y cols., 1998).

Digestión con enzima de restricción

Los diferentes productos de PCR fueron sometidos a la acción de las enzimas de restricción *TaqI*, *HincII* y *AvaII*, siguiendo las recomendaciones de la casa comercial New England Biolabs (Anexo 10). Para observar el producto de la digestión, se realizó una electroforesis en gel de poliacrilamida al 12,00%, para *TaqI* y *HincII* y para *AvaII* se disminuyó la concentración al 10,00%, utilizando el mismo protocolo empleado para verificar el producto de amplificación (Yamakawa y cols., 1987; Leitersdorf y Hobbs, 1988; Ahn y cols., 1994; Miserez y cols., 1993).

Las enzimas de restricción empleadas reconocen y cortan las siguientes secuencias de ADN:

- *TaqI*: 5'- T \downarrow CGA-3' (3'- AGC \uparrow A-5')
- *HincII*: 5'- GTY \downarrow RAC-3' (3'- CAR \uparrow YTG -5')
- *AvaII*: 5'- G \downarrow GWCC-3' (3'- CCWG \uparrow G -5')

Donde Y representa las bases nitrogenadas C o T, R puede ser A o G y W es A o T (Anexo 9).

Determinación de los parámetros antropométricos

Se determinaron algunos parámetros antropométricos en el Servicio de Nutrición y Dietética del HUAPA, con la colaboración de una nutricionista entrenada en el área y siguiendo los procedimientos descritos por Weiner y Lourie, (1969). Se determinaron el peso actual (P), talla (T), circunferencia cintura (C.CIN) y circunferencia cadera (C.CAD). Se calculó el IMC e ICC (Hernández, 1997).

Se obtuvo el P y la T en una balanza con tallímetro, marca Detecto[®], calibrada en las escalas de kilogramos y centímetros respectivamente, colocando al paciente de pie, descalzo y en ropa ligera, siguiendo los protocolos estandarizados (Hernández, 1997). Las medidas de circunferencias fueron obtenidas con una cinta métrica no extensible calibrada en centímetros, especial para este tipo de determinaciones. Para las medidas de C.CIN se colocó la cinta métrica en el punto medio entre la última costilla y la cresta ilíaca, pasando por la cicatriz umbilical. Para las medidas de C.CAD se colocó la cinta métrica en el perímetro de la región pélvica, cuidando de que la cinta estuviese ubicada a nivel de ambas crestas ilíacas (Restrepo, 1997).

Con los valores de P y T, se calculó el IMC que se define mediante la siguiente fórmula:

$$\text{IMC} = \text{peso actual (kg)} / \text{estatura (m}^2\text{)}$$

El ICC se determinó al dividir C.CIN entre C.CAD, en centímetros (cm).

$$\text{C.CIN (cm)} / \text{C.CAD (cm)}$$

Determinación de los parámetros bioquímicos

Para la determinación de las concentraciones de glicemia, triglicéridos, colesterol total (CT) y HDL-colesterol (HDL-c) en suero, se contó con un analizador Olympus modelo AU 640 automatizado, utilizando los reactivos de la casa comercial Olympus. Los niveles de LDL-colesterol (LDL-c) y VLDL-colesterol (VLDL-c) fueron reportados por el equipo analizador (Trinder, 1974).

Glucosa

En este procedimiento, la glucosa es fosforilada por la hexokinasa en presencia de adenosina trifosfato e iones de magnesio para producir glucosa-6-fosfato (G-6-P) y adenosina-difosfato. La enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6P-DH) oxida específicamente al G-6-P a 6-fosfogluconato con la consiguiente reducción de dinucleótido nicotinamida adenina (NAD) a dinucleótido nicotinamida adenina reducida (NADH). El cambio de la absorbancia a 340/380 nanómetros (nm) es proporcional a la cantidad de glucosa presente en la muestra. Los valores de referencias son 60,00-110,00 mg/dl (Nelson, 1944; Olympus Diagnóstica, 2004a).

Triglicéridos

El procedimiento para la detección de triglicéridos se basó en el método del glicerol fosfato oxidasa (GPO), en el cual la hidrólisis de los triglicéridos se lleva

cabo por acción de la lipasa microbial, con la consecuente formación de glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por adenosina-5-trifosfato (ATP) en glicerol-3-fosfato (G3P), en una reacción catalizada por la enzima glicerol kinasa (GK). El G3P es oxidado por la enzima glicerol fosfato oxidasa a fosfato dihidroxiacetona. En la reacción se produce peróxido de hidrógeno, el cual oxida al cromógeno compuesto de 4-aminoantipirina (4-AAP) y 4-clorofenol, bajo la influencia catalítica de la enzima peroxidasa, para formar una coloración rosa. La determinación se realiza a una absorbancia máxima de 500nm. Los valores de referencia son 35,00-160,00 mg/dl (Trinder, 1974; Olympus Diagnóstica, 2004b).

Colesterol total

La determinación de los niveles séricos de colesterol total, se efectuó por el método enzimático colorimétrico colesterol esterasa y colesterol oxidasa, cuyo principio consiste en la hidrólisis del colesterol esterificado por la acción de la enzima colesterol esterasa, para producir colesterol libre y ácidos grasos. Posteriormente, el colesterol libre es oxidado por la enzima colesterol oxidasa (CHO), con la producción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el cual oxida al cromógeno 4-aminoantipirina/fenol (4-AAP/fenol) para producir un compuesto coloreado mediante una reacción catalizada por la peroxidasa. La intensidad de la coloración es directamente proporcional a la concentración de colesterol en la muestra. El colorante rojo de quinoneimina formado se puede medir espectrofotométricamente a 540/600 nm. Los valores de referencia de colesterol total son hasta 200,00 mg/dl (Trinder, 1974; Olympus Diagnóstica, 2004c).

HDL-colesterol

El análisis de HDL-c, se determinó mediante el método de precipitación, en el cual las LDL y las VLDL son precipitadas del suero sanguíneo, a un pH de 5,7, por la

adición del reactivo fosfotungstato amortiguado, permaneciendo las HDL en el sobrenadante. La centrifugación del suero pretratado resulta en un sobrenadante aclarado que contiene HDL, el cual es analizado por el método enzimático del colesterol esterasa. Los valores de referencia son >35,00 mg/dl en hombres y mujeres (Bauer, 1986, Olympus Diagnóstica, 2004d).

LDL-colesterol

Los niveles de LDL-c fueron obtenidos mediante el método indirecto según Friedewald empleando la siguiente fórmula:

$$\text{LDL-c} = \text{CT} - \text{TG}/5 - \text{HDL-c}$$

Los valores de referencia son < a 150 mg/dl (Bernard, 1993).

Determinación de los niveles séricos de VLDL-colesterol

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

$$\text{VLDL-c} = \text{Triglicéridos}/5.$$

Esta fórmula es utilizada cuando las concentraciones de triglicéridos no exceden los 400,00 mg/dl. Los valores de referencia son 10,00-36,00 mg/dl (Bernard, 1993).

Análisis estadístico

Se estimaron las frecuencias alélicas de cada uno de los sistemas por conteo directo. Se analizó el ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W), a partir de las frecuencias genotípicas, realizando una prueba de ji cuadrado (χ^2) con el programa MAXLIK (Reed y Schull, 1968). Se compararon los promedios de los parámetros bioquímicos y antropométricos por género, mediante la prueba t de Student (Sokal y Rohlf, 1981). También se compararon los parámetros bioquímicos y antropométricos en relación con las frecuencias genotípicas obtenidas de cada sistema, aplicando la prueba de análisis de varianza (ANOVA) (Sokal y Rohlf, 1981).

RESULTADOS

La tabla 1 muestra la clasificación de la población en estudio de acuerdo al sexo. De un total de 81 individuos, el mayor porcentaje eran de sexo femenino 53,09%, (n=43) y 46,91% (n=38) masculino, con edades entre 18 y 45 años.

Tabla 1. Distribución porcentual de la muestra poblacional perteneciente al estado Sucre, por género, enero-marzo 2010.

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

n: número total de individuos.

En la tabla 2 se reportan las frecuencias alélicas relativas de los polimorfismos en la población estudiada del estado Sucre; mostrándose los valores, que indican la presencia (+) o ausencia (-) del sitio de corte. Se observaron frecuencias bajas para la secuencia de reconocimiento *TaqI* (11,00%), intermedias para *AvaII* (39,00%) y más elevadas para *HincII* (72,00%).

Tabla 2. Distribución de las frecuencias alélicas de los sitios de restricción polimórficos *TaqI*, *HincII* y *AvaII*, ubicados en el gen que codifica para el receptor de la lipoproteína de baja densidad (gen LDLR) de la muestra poblacional perteneciente al estado Sucre, enero-marzo 2010.

Alelo	n	Frecuencia (%)
<i>TaqI</i>		
A (-)	144	89,00
G (+)	18	11,00
<i>HincII</i>		
T (+)	116	72,00
C (-)	46	28,00
<i>AvaII</i>		
T (-)	98	61,00
C (+)	64	39,00

n: número total de cromosomas; A: adenina; G: guanina; T: Timina; C: citosina.

La tabla 3 muestra la distribución de los genotipos, para los polimorfismos analizados, observándose para *TaqI* una mayor frecuencia para el genotipo A/A (79,01%), que señala la ausencia del sitio de corte (-) en estado homocigoto, seguida del G/A (19,75%), que indica el estado heterocigoto (+/-) y en muy baja proporción el G/G (1,24%) que muestra el estado homocigoto positivo (+) para el corte, señalando la presencia del mismo. Con respecto al polimorfismo *HincII* su frecuencia fue mayor para el genotipo homocigoto con el sitio de corte T/T (53,08%), seguida del heterocigoto T/C (37,04%) y del homocigoto negativo (-) C/C (9,88%). El polimorfismo *AvaII* presentó mayor frecuencia para el heterocigoto T/C (44,44%), seguida del homocigoto negativo (-) para el corte T/T (38,27%) y del homocigoto positivo (+) C/C (17,28%).

Tabla 3. Distribución genotípica de los sitios de restricción polimórficos *TaqI*, *HincII* y *AvaII*, ubicados en el gen que codifica para el receptor de la lipoproteína de baja densidad (gen LDLR), de la muestra poblacional perteneciente al estado Sucre, enero-marzo 2010.

Genotipo	n	Frecuencia (%)
<i>TaqI</i>		
A/A (-/-)	64	79,01
G/A (+/-)	16	19,75
G/G (+/+)	1	1,24
<i>HincII</i>		
C/C (-/-)	8	9,88
T/C (+/-)	30	37,04
T/T (+/+)	43	53,08
<i>AvaII</i>		
T/T (-/-)	31	38,27
C/T (+/-)	36	44,44
C/C (+/+)	14	17,28

n: número total de cromosomas; A/A: adenina/adenina; G/A: guanina/adenina; G/G: guanina/guanina; C/C: citosina/citosina; T/C: timina/citosina; T/T: timina/timina.

La tabla 4 indica los valores medios de los parámetros bioquímicos tales como la glicemia, triglicéridos, CT, HDL-c, LDL-c y VLDL-c y antropométricos IMC e

ICC, clasificados de acuerdo al sexo, analizados mediante la prueba t de Student. Se observó que no existe una diferencia significativa entre los resultados obtenidos con respecto al género, excepto en el ICC, donde los valores fueron mayores para el sexo masculino, sin embargo dicha diferencia no son de importancia clínica, puesto que el límite normal entre los hombres es mayor con respecto al de las mujeres 0,93 y 0,86, respectivamente.

Tabla 4. Parámetros bioquímicos y antropométricos en la muestra poblacional del estado Sucre según el sexo, enero-marzo 2010.

VARIABLES	Mujeres ($\bar{x} \pm DE$)	Hombres ($\bar{x} \pm DE$)	t
Glicemia (mg/dl)	88,37 ± 17,69	92,13 ± 9,91	-1,16
Triglicéridos (mg/dl)	98,12 ± 48,83	110,95 ± 54,38	-1,12
CT (mg/dl)	168,84 ± 33,40	169,42 ± 37,11	-0,07
HDL-c (mg/dl)	42,98 ± 9,08	39,84 ± 8,02	1,64
LDL-c (mg/dl)	106,84 ± 32,84	107,34 ± 30,96	-0,07
VLDL-c (mg/dl)	19,51 ± 9,79	22,24 ± 10,90	-1,19
IMC (kg/m ²)	26,72 ± 7,01	25,83 ± 2,48	0,74
ICC	0,86 ± 0,07	0,93 ± 0,04	-5,45

\bar{x} : media; DE: desviación estándar; t: t de Student ± 1,94; CT: colesterol; HDL-c: colesterol de alta densidad; LDL-c: colesterol de baja densidad; VLDL-c: colesterol de muy baja densidad; IMC: índice de masa corporal; ICC: índice de cintura-cadera.

En la tabla 5 se muestran los valores medios de los parámetros bioquímicos y antropométricos de los individuos evaluados, clasificados según los genotipos del sitio polimórfico *TaqI*. Los datos fueron analizados a través de la prueba ANOVA, considerando a los individuos homocigotos G/G y heterocigotos G/A en un mismo grupo. No se encontró asociación significativa entre los parámetros determinados y los genotipos encontrados en este grupo de estudio.

Tabla 5. Parámetros bioquímicos y antropométricos en la muestra perteneciente al estado Sucre, según los genotipos del sitio polimórfico TaqI, enero-marzo 2010.

Variables	Genotipos		p
	A/A (-/-)	G/A (+/-)-G/G (+/+)	
Glicemia (mg/dl)	91,36 ± 15,45	85,53 ± 9,89	0,14
Triglicéridos (mg/dl)	105,00 ± 53,67	100,88 ± 44,18	0,77
CT (mg/dl)	170,14 ± 36,30	165,24 ± 30,07	0,61
HDL-c (mg/dl)	40,98 ± 8,27	43,47 ± 10,14	0,30
LDL-c(mg/dl)	108,55 ± 33,48	101,53 ± 24,33	0,42
VLDL-c (mg/dl)	20,93 ± 10,79	20,24 ± 8,78	0,81
IMC (kg/m ²)	26,19 ± 4,02	28,37 ± 6,60	0,09
ICC	0,90 ± 0,06	0,88 ± 0,08	0,33

A/A: adenina/adenina; G/A: guanina/adenina; G/G: guanina/guanina; p ≤0,05: probabilidad; CT: colesterol; HDL-c: colesterol de alta densidad; LDL-c: colesterol de baja densidad; VLDL-c: colesterol de muy baja densidad; IMC: índice de masa corporal; ICC: índice cintura-cadera.

La tabla 6 muestran los valores de los parámetros bioquímicos y antropométricos de los individuos estudiados, distribuidos de acuerdo a los genotipos encontrados para el polimorfismo *HincII*. No se observaron diferencias significativamente entre las variables analizadas y los genotipos encontrados.

En la tabla 7 se muestran los diferentes parámetros que se analizaron en este estudio y los valores medios clasificados de acuerdo a los genotipos del polimorfismo *AvaII*, donde no se encontró una asociación significativa entre los resultados, a excepción de los triglicéridos y VLDL-c que mostró una diferencia significativa en relación a los genotipos encontrados para dicho polimorfismo (p<0,05), observándose mayor valor para el genotipo C/C, el cual indica la presencia del sitio de corte; resultados que son similares a los reportados por Ahn y cols. (1994) en la población caucásica femenina postmenopáusica (p<0,05).

Tabla 6. Parámetros bioquímicos y antropométricos en la muestra poblacional del estado Sucre, clasificados de acuerdo con los genotipos del sitio polimórfico HincII, enero-marzo 2010.

Variables	Genotipos			p
	C/C (-/-)	T/C (+/-)	T/T (+/+)	
Glicemia (mg/dl)	92,88 ± 9,57	93,20 ± 21,20	87,49 ± 8,08	0,22
Triglicéridos (mg/dl)	138,13 ± 60,79	100,17 ± 52,15	100,58 ± 48,28	0,14
CT (mg/dl)	162,75 ± 41,11	169,23 ± 38,40	170,21 ± 31,94	0,86
HDL-c (mg/dl)	40,50 ± 8,62	40,87 ± 8,80	42,14 ± 8,77	0,78
LDL-c (mg/dl)	94,75 ± 36,48	109,17 ± 36,75	107,91 ± 27,13	0,51
VLDL-c (mg/dl)	27,50 ± 12,34	19,90 ± 10,48	20,16 ± 9,66	0,15
IMC (kg/m ²)	26,75 ± 4,27	26,47 ± 4,46	26,75 ± 5,06	0,97
ICC	0,88 ± 0,08	0,91 ± 0,06	0,89 ± 0,07	0,30

C/C: citosina/citosina; T/C: timina/citosina; T/T: timina/timina; p ≤ 0,05: probabilidad; CT: colesterol; HDL-c: colesterol de alta densidad; LDL-c: colesterol de baja densidad; VLDL-c: colesterol de muy baja densidad; IMC: índice de masa corporal; ICC: índice cintura-cadera.

Tabla 7. Parámetros bioquímicos y antropométricos en la muestra perteneciente al estado Sucre, distribuidos según los genotipos del sitio polimórfico AvaII, enero-marzo 2010.

Parámetros	Genotipos			p
	T/T(-/-)	C/T (+/-)	C/C (+/+)	
Glicemia (mg/dl)	86,03 ± 8,67	92,11 ± 17,30	94,14 ± 16,26	0,12
Triglicéridos (mg/dl)	102,26 ± 52,57	92,64 ± 44,11	137,86 ± 56,23	0,02
CT (mg/dl)	173,13 ± 29,66	163,42 ± 37,79	174,86 ± 38,55	0,42
HDL-c (mg/dl)	43,61 ± 8,52	40,11 ± 9,18	40,42 ± 7,24	0,23
LDL-c (mg/dl)	109,03 ± 23,62	105,42 ± 37,23	107,00 ± 34,33	0,90
VLDL-c (mg/dl)	20,48 ± 10,52	18,47 ± 8,89	27,43 ± 11,34	0,02
IMC (kg/m ²)	27,05 ± 5,24	25,89 ± 4,46	27,70 ± 8,30	0,62
ICC	0,88 ± 0,06	0,90 ± 0,06	0,91 ± 0,08	0,35

C/C: citosina/citosina; T/C: timina/citosina; T/T: timina/timina; p ≤ 0,05: probabilidad; CT: colesterol; HDL-c: colesterol de alta densidad; LDL-c: colesterol de baja densidad; VLDL-c: colesterol de muy baja densidad; IMC: índice de masa corporal; ICC: índice de cintura-cadera.

En la tabla 8 se señalan datos personales de los individuos que participaron en el presente estudio, tales como los antecedentes familiares, el tabaquismo, el consumo de bebidas alcohólicas y la actividad física, los cuales, son considerados factores de riesgo predisponentes para la aparición de ECNT como la obesidad, diabetes mellitus,

dislipidemias, enfermedades cardiovasculares, entre otros. Con respecto a los antecedentes familiares para el riesgo de sufrir de ECNT, se observó que el 9,87% (n=8) indicó tener antecedentes de algunas de estas patologías. En relación a los hábitos de fumar, sólo el 11,11% reportó ser fumador o exfumador. El 54,32% señaló consumir bebidas alcohólicas, un 45,68% de manera ocasional y un 8,64% semanalmente. El 70,47% afirmó no realizar actividad física o lo hacen de manera moderada.

Tabla 8. Factores de riesgo para padecer enfermedades crónicas no transmisibles, evaluados en los individuos en estudio perteneciente al estado Sucre, enero-marzo de 2010.

Factores de riesgo	n	Porcentaje (%)
ANTECEDENTES FAMILIARES		
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
HABITOS DE FUMAR		
Nunca ha fumado	72	88,89
Ex fumador	5	6,17
Fumador	4	4,94
CONSUMO DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS		
Nunca	18	22,22
Ocasional	37	45,68
Tres veces por mes	19	23,46
Tres veces por semana	7	8,64
ACTIVIDAD FÍSICA		
Sedentarismo	29	35,90
Actividad moderada	28	34,57
Actividad frecuente/deportista	24	29,63

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

Las figuras 1, 2 y 3 muestran los sitios de restricción polimórficos *TaqI*, *HincII* y *AvaII* del gen LDLR, en geles de poliacrilamida. Lo patrones de bandas para los productos amplificados y digeridos con las respectivas enzimas, concuerdan con los tamaños de las bandas reportadas en la literatura (Hoobs y cols., 1987; YamaKawa y cols., 1987; Leitersdorf y Hoobs, 1988).

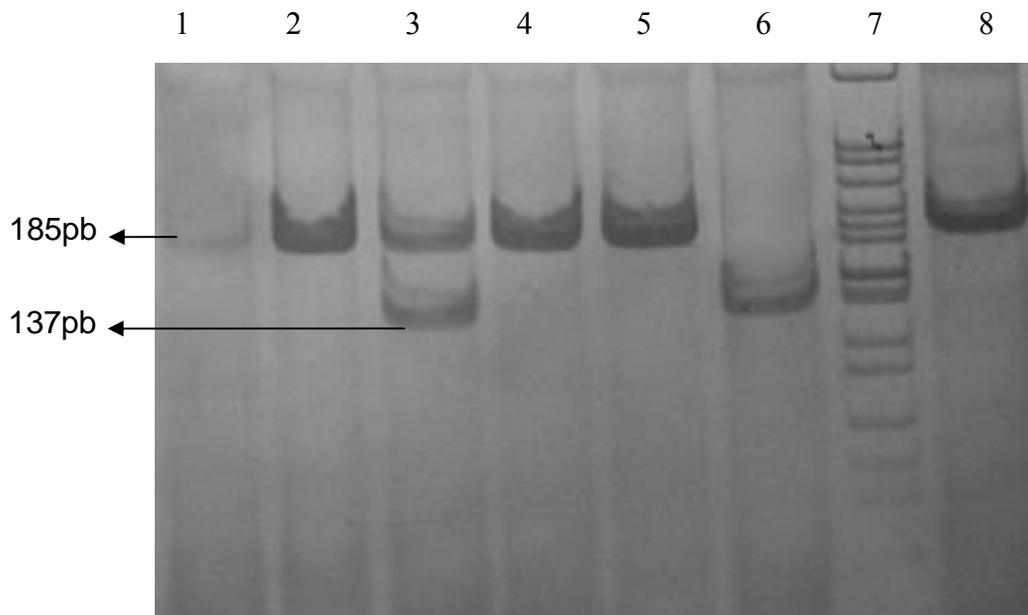


Figura 1. Gel de poliacrilamida al 12% donde se observan las bandas que describen los genotipos del sitio de restricción polimórfico *TaqI*, ubicado en el gen que codifica para el receptor de la lipoproteína de baja densidad (gen LDLR).

Pozo 1,2, 4 y 5: genotipo A/A; pozo 3: genotipo G/A, pozo 6: presencia del genotipo G/G; pozo 7: patrón (ADN del plásmido pBR 322 digerido por la enzima de restricción *MspI*); pozo 8: muestra sin digerir.

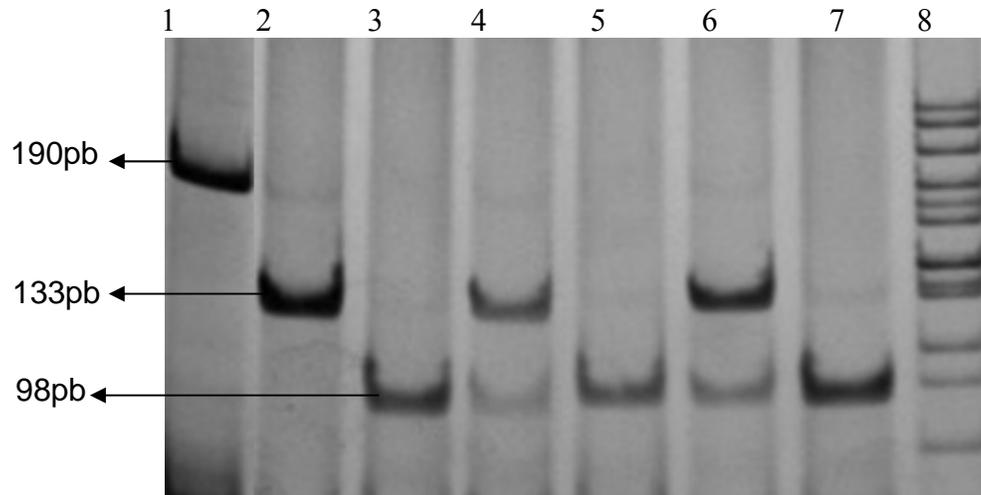


Figura 2. Gel de poliacrilamida al 12% donde se observan las bandas que identifican los genotipos del sitio de restricción polimórfico HincII, ubicado en el gen que codifica para el receptor de la lipoproteína de baja densidad (gen LDLR).

Pozo 1: Presenta la muestra sin digerir; pozo 2: Genotipo C/C; pozo 3, 5 y 7: presencia del genotipo T/T; pozo 4 y 6: genotipo T/C; pozo8: patrón (ADN del plásmido pBR 322 digerido por la enzima de restricción MspI)

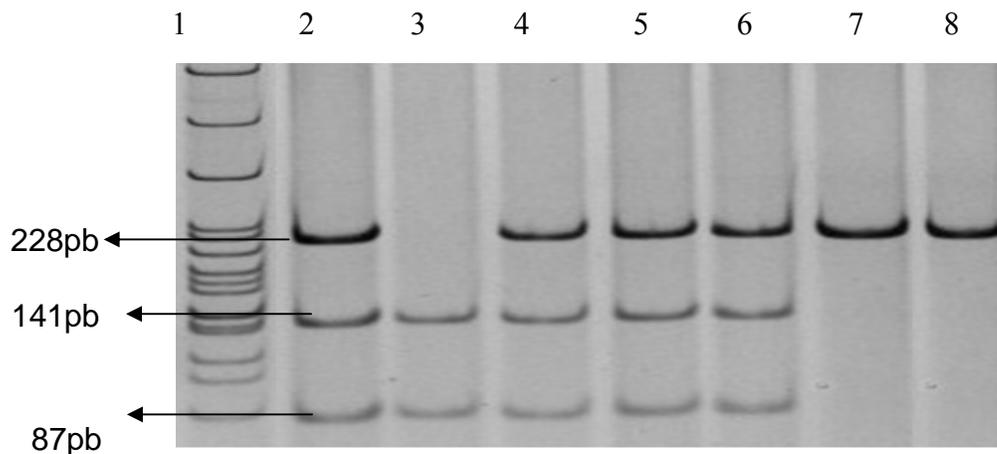


Figura 3. Gel de poliacrilamida al 10% donde se muestran las bandas que describen los genotipos del sitio de restricción polimórfico AvaII, ubicado en el gen que codifica para el receptor de la lipoproteína de baja densidad (gen LDLR).

Pozo 1: se observa el patrón (ADN del plásmido pBR 322 digerido por la enzima de restricción MspI); pozo 2, 4,5 y 6: genotipo C/T; pozo 3: genotipo C/C; pozo 7: genotipo T/T; Pozo 8: muestra sin digerir.

DISCUSIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de mortalidad en muchos países, incluyendo Venezuela. Uno de los factores principales de estas patologías, son atribuidas a las alteraciones del metabolismo de los lípidos y lipoproteínas con incremento de los niveles plasmáticos de los mismos. El LDLr es una proteína de membrana, que juega un papel fundamental en la homeostasia del colesterol, por lo cual, algunos defectos en su síntesis podrían contribuir a la variación en los niveles de colesterol plasmático en la población en general y estar asociado al padecimiento de hipercolesterolemia, considerada una de las condiciones predisponentes al desarrollo prematuro de estas patologías. El gen LDLR, ha sido objeto de muchos estudios y los mismos han sentado las bases para demostrar que este gen es altamente polimórfico, con frecuencias variables entre diferentes grupos poblacionales (Rader y cols., 2003; Colpo, 2005).

En el presente estudio, se observó que el sitio de restricción polimórfico *TaqI* presentó una frecuencia alélica de 11,00%; la cual es similar a la descrita por Miserez y cols. (1993), en la población de Suiza (10,80%) e inferior a la de Alemania (33,70%). Sin embargo, es más elevada que las frecuencias obtenidas por Humphries y cols. (1993), en Londres (8,00%), y por Chaves y cols. (1996) en España (8,20%). En el continente africano se han realizado pocos estudios, encontrándose en Suráfrica valores bajos (3,60%) (Kotze y cols., 1989); mientras que en Asia, Yamakawa y cols. (1991) y Chae y cols. (2001), observaron en Japón (51,20%) y Corea (46,50%), respectivamente, las mayores proporciones de *TaqI* reportadas hasta en el momento.

Según los datos disponibles, en el continente americano sólo se ha realizado un estudio en Minnesota-EEUU, donde Haviland y cols. (1997) señalan una frecuencia de *TaqI* (10,00%) similar a la observada en los individuos del estado Sucre, y otro análisis en Brasil por Mattevi y cols. (2000), quienes alegan que no existían

diferencias significativas en las frecuencias de esta variante en tribus amerindias como Gavião (15,00%), Wai Wai (15,00%), Zoró (16,00%), Suruí (17,00%) y Xavante (25,00%) (Anexo 10). La información existente permite deducir que, la presencia del sitio de reconocimiento para la enzima *TaqI* en esta zona del genoma, es poco frecuente en la mayoría de las poblaciones estudiadas, a excepción de los países asiáticos donde se observan frecuencias mayores al 46,00% (Yamakawa y cols., 1991; Chae y cols., 2001). Además, salvo algunas particularidades, parece mantener una distribución uniforme dentro de un mismo continente.

Las frecuencias genotípicas para *TaqI* en la población analizada, fueron mayores para A/A (79,01%, n=64); seguida de G/A (19,75%, n=16) y muy bajas para G/G (1,24%, n=1), ajustándose al equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) (Anexo 13), cumpliendo con las condiciones propuesta por este teorema; el cual considera los siguientes tratados: el tamaño de la población debe ser infinitamente grande, la segregación de los genes acontecen de acuerdo a las leyes de Mendel, los apareamientos suceden al azar, el aporte de nuevos alelos por sucesos mutacionales es omisible, no debe existir intercambio de genes con individuos de otras poblaciones, además todos los individuos deben tener en promedio igual número de descendientes; deduciéndose que las frecuencias génicas y genotípicas en la población se mantienen constantes de generación en generación. Es importante señalar que la mayoría de los reportes sobre *TaqI* no hacen referencia de las frecuencias genotípicas (Crown, 1999).

En el presente estudio, no se observó asociación de los genotipos del polimorfismo *TaqI* con los parámetros bioquímicos y antropométricos analizados. Estos resultados son similares a los reportados por Mattevi y cols. (2000), quienes realizaron análisis antropométricos en la población de Brasil. No obstante, Yamakawa y cols. (1988), Yamakawa y cols. (1991) y Chae y cols. (2001), alegan que este sitio de restricción puede tener asociación significativa con los niveles de lípidos en suero y la confirmación de la HF, en familias japonesas y coreanas,

respectivamente. En Japón, el *TaqI* proporcionó información de genes mutantes en dos de seis familias con HF, sugiriendo su utilidad como marcador genético en el locus del LDLR y para el análisis de algunas mutaciones en este receptor. Posteriormente, el mismo grupo de investigación, realizaron un estudio en 17 familias, de las cuales 16 presentaban severa hipercolesterolemia asociada a xantomas en los tendones. Estos resultados son compatibles con la interpretación de que la HF es ocasionada por defectos en el gen LDLR (Yamakawa y cols., 1988; Yamakawa y cols., 1991).

La frecuencia alélica del sitio de restricción polimórfico *HincII* en los individuos del estado Sucre (72,00%) analizadas en el presente estudio, fueron superiores a las encontradas por Humphries y cols. (1993) en las poblaciones caucásicas de Londres (49,00%), por Miserez y cols. (1993) en Alemania (62,90%) y Suiza (56,90%), por Horinek y cols. (1995) en la República Checa (50,00%) y a la observada por Chaves y cols. (1996) en España (59,80%). En Australia Zee y cols. (1995) reportaron una frecuencia (57,00%), semejante a las europeas. En Asia este alelo ha mostrado gran variabilidad, con proporciones bajas en Japón (16,90%) y China (16,80%), de acuerdo a los reportes de Fu y cols. (2001) y de Zeng y cols. (2010), respectivamente. Por otra parte, Petrishchev y cols. (1992) en Rusia (75,65%) y Sambuugiin y cols. (1992) en Mongolia (76,53%), encontraron valores aproximados a los observados en este estudio. No obstante, exceptuando algunas poblaciones amerindias de Brasil, Chae y cols. (2001) obtuvieron en Corea (86,20%), la frecuencia más alta reportada para este locus.

En América, la mayoría de los reportes existentes muestran valores inferiores a los observados en el presente estudio. Es así como, Haviland y cols. (1997) y Boright y cols. (1998) señalan las frecuencias de poblaciones del norte como Minnesota (58,00%) y Alberta-Canadá (61,00%), respectivamente; mientras que, en Suramérica, Salazar y cols. (1999), Salazar y cols. (2000) estudiaron caucásicos brasileños

(45,00%); no obstante, Nakazone y cols. (2009), analizando otro grupo de individuos brasileños descendientes de europeos, encuentran frecuencias más elevadas en Brasil (60,00%), sugiriendo una distribución diferencial de este polimorfismo, aún dentro de un mismo país. Estas diferencias son más pronunciadas en poblaciones brasileñas amerindias como Xavante (54,00%) y Gavião (65,00%), además de Wai Wai (75,00%), Zoró (77,00%) y Suruí (90,00%), en las cuales se observaron proporciones mayores en comparación con los resultados obtenidos en este estudio (Anexo 11). En el continente africano no se han encontrado reportes al respecto. Estos hallazgos evidencian que *HincII* presenta una frecuencia elevada, con una distribución más o menos uniforme en Europa y América del Norte y algo contrastante en Asia, con valores muy elevados en unos países (Corea y Mongolia) y más bajos en otros (Japón y China) (Sambuugiin y cols., 1992; Miserez y cols., 1993; Chaves y cols., 1996; Haviland y cols., 1997; Boright y cols., 1998; Chae y cols., 2001; Fu y cols., 2001; Zeng y cols., 2010).

Para *HincII* las frecuencias genotípicas fueron de 53,08% (n=43) para T/T; 37,04% (n=30) para T/C y 9,88% (n=8) para C/C. La muestra analizada se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg, manifestando concordancia entre las proporciones alélicas y genotípicas (Anexo 13). Estos resultados son semejantes a los mostrados por Sambuugiin y cols. (1992) en la población de Mongolia con 58,42% de T/T, 37,30% T/C y 5,34% C/C. Mientras que, difieren de otros reportes donde las tendencias son invertidas, con mayores valores para los heterocigotos T/C. En este sentido, Zee y cols. (1995), encontraron para este genotipo un 41,67% en Australia (36,46% para T/T y 21,88% de C/C), Boright y cols. (1998) un 46,80% en Alberta-Canadá (con 37,30% T/T y 15,90% de C/C) y Nakazone y cols. (2009) un 55,00% en Brasil (32,00% T/T y 13,00% C/C). Por su parte, Salazar y cols. (1999) obtienen proporciones superiores para T/C (55,00%); sin embargo, muestran un incremento considerable de C/C (27,00%) y valores más bajos del homocigoto para la presencia del sitio *HincII* (18,00%), en un grupo de brasileños caucásicos, lo cual es compatible

con las más bajas frecuencias del alelo T (45,00%) encontradas en esa población.

En contraste con los resultados obtenidos en el presente estudio, en Asia se observan tendencias distintas. Al respecto, Fu y cols. (2001), reportan mayor proporción de C/C (70,30%), seguida de T/C (25,50%) y en muy baja frecuencia de T/T (4,20%) en la población japonesa; en tanto que, Zeng y cols. (2010) observan valores semejantes de C/C (70,70%) y T/C (25,00%) en Changsha-China, acorde con una proporción mayor al 83,00% para la ausencia del sitio de restricción *HincII* en ambas poblaciones.

En este estudio, no se encontró asociación entre los parámetros bioquímicos y antropométricos, con los genotipos del sitio de restricción *HincII*. Resultados similares fueron planteados por Nakazone y cols. (2009), en la población de Brasil, donde no se correlacionó este sitio con diferencias en los niveles lipídicos y la presencia de xantolemas. Asimismo, Zeng y cols. (2010) reportaron en Changsha-China la ausencia de asociación de este polimorfismo con la incidencia a hemorragias cerebrales y su efecto con las concentraciones lipídicas. Sin embargo, en los grupos con la presencia del sitio *HincII*, encontrados en este estudio, se mostró niveles mayores de colesterol total y menores de triglicéridos y VLDL-c, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Otros reportes han mostrado que el polimorfismo *HincII*, está relacionado con alteraciones en los niveles lipídicos, que pueden conllevar a la predisposición de enfermedades cardiovasculares. Boright y cols. (1998), reportaron una asociación significativa de *HincII* con niveles de LDL-c en individuos normolipidémicos de Alberta-Canadá, postulando que las variaciones estructurales en el gen LDLR influyen en las funciones del receptor LDLr, afectando de esta manera las concentraciones plasmáticas de las lipoproteínas en esta población. Salazar y cols. (1999; 2000), también reportaron un incremento de los niveles de colesterol total y

LDL-c, en individuos brasileños con enfermedades cardiovasculares que presentaban el sitio *HincII* en estado homocigoto (T/T). Así mismo, Fu y cols. (2001) en una población japonesa de individuos normotensos, lo relacionaron con aumento en los niveles plasmáticos de colesterol total y LDL-c. Por otra parte, Mattevi y cols. (2000), encontraron asociación de este sitio polimórfico, con parámetros antropométricos como los pliegues cutáneo, en algunas poblaciones nativas de Brasil.

Zhu y cols. (2007) plantearon que el *HincII* es un inhibidor de la eficiencia de la función de empalme del LDLr, lo cual puede ser fisiológicamente relevante ya que la presencia del alelo T (+) se asoció con un aumento del colesterol total y del LDL-c en los miembros femeninos del Estudio Framingham Offspring (FOS, del inglés Framingham Offspring Study), Massachusetts-USA. Este análisis fue realizado *in vivo* en muestras de hígado humano, estableciendo una asociación significativa de *HincII* con la disminución de la función de empalme en mujeres, observándose mayores diferencias de los niveles de colesterol en aquellas que estaban en estado de premenopausia. Según este reporte, la presencia de *HincII* se encuentra en un 60,00% de los caucásicos y se asocia con un aumento del 10,00% de colesterol total y de LDL-c en las mujeres con esta condición fisiológica.

En relación al sitio de restricción polimórfico *AvaII*, la frecuencia observada en el presente estudio fue de 39,00%. Estos resultados son comparables con los de varios países europeos, encontrándose valores similares a los reportados por Horinek y cols. (1995) en la República Checa (39,00%), por Daga y cols. (1990) en Italia (38,70%) y por Chaves y cols. (1996) en España (37,50%), sin embargo, es superior a la frecuencia de Alemania (6,30%), de acuerdo a lo señalado por Miserez y cols. (1993) e inferior a la de Humphries y cols. (1993) en Londres (49,00%). Además de las obtenidas por Rodningen y cols. (1993) en Noruega (48,00%), por Miserez y cols. (1993) en Suiza (43,00%) y por Ahn y cols. (1994) en el norte de Europa (43,00%). En el continente africano, Berkman y cols. (1992) señalan para Israel una frecuencia

de 47,00% y en Suráfrica Kotze y cols. (1989) describen valores (37,80%) similares a las del presente estudio. En Asia las frecuencias obtenidas fueron bajas de acuerdo a los reportes de Liu y cols. (2003) en Shanghai-China (14,30%), de Yamakawa y cols. (1991) en Japón (14,90%), de Guo y cols. (2002) en Han-China (23,00%) y de Chae y cols. (2001) en Corea (24,00%); sin embargo, Ninsha y cols. (2010) encontraron valores superiores en la India (67,00%).

En el continente americano existen pocas referencias al respecto, destacándose los trabajos de Leitersford y cols. (1989), quienes describen en individuos norteamericanos (43,10%) una frecuencia similar a la de hispanos del Valle de San Luis Colorado (44,00%), según Ahn y cols. (1994); mientras que, Haviland y cols. (1997), obtuvieron en Minnesota un valor más elevado (56,00%). En Suramérica, Salazar y cols. (1999; 2000) y Nakazone y cols. (2009) encontraron semejanzas en dos grupos de brasileños de ascendencia europea, (45,00, 45,00 y 43,00% respectivamente); sin embargo, Mattevi y cols. (2000) hallaron variaciones en tribus nativas brasileñas como Suruí (36,00%), Zoró (41,00%), Gavião (47,00%), Wai Wai (58,00%) y Xavante (73,00%) (Anexo 12). De acuerdo a lo planteado, este polimorfismo es frecuente en la mayoría de las poblaciones estudiadas.

Los individuos sucrenses evaluados en este estudio, mostraron para *AvaII* valores superiores para el genotipo C/T (44,44%, n=36), seguido de T/T (38,27%, n=31) y por último C/C (17,28%, n=14); a partir de estas proporciones se observó que la población se encontraba en equilibrio de Hardy-Weinberg (Anexo 13). Estos resultados difieren de lo encontrado por Ahn y cols. (1994) en un grupo no hispano del Valle de San Luis, Colorado (inmigrantes europeos), que mostraron valores mayores de C/T (52,88%, n=283%) e invertidos para C/C (30,35%, n=163) y T/T (16,75%, n=90); semejantes a los observados para el grupo hispano que presentaron las mismas tendencias para C/T (54,86%, n=203), C/C (28,88%, n=105) y T/T (16,86%, n=62). Con respecto a las frecuencias reportadas por Salazar y cols. (1999)

en Brasil fueron de C/T (58,00%), T/T (26,00%) y C/C (16,00%), reflejando que este polimorfismo tiene una alta heterogeneidad poblacional.

En el presente trabajo los individuos homocigotos para la presencia de *AvaII* (C/C) tuvieron valores de glicemia, triglicéridos, colesterol total, VLDL-c, IMC e ICC, mayores que los de los genotipos C/T y T/T, no obstante, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas, a excepción de los niveles de triglicéridos y VLDL-c, los cuales presentaron una marcada diferencia ($p < 0,05$) con valores mayores para C/C (137,86 y 27,43 mg/dl respectivamente). La media de los niveles de triglicéridos (T/T=102,26 y C/T=92,64 mg/dl) y de VLDL-c (T/T=20,48 y C/T=18,47 mg/dl), no mostraron una tendencia a disminuir con la presencia de T, sugiriendo la inexistencia de un efecto de dosis alélica. Resultados similares fueron obtenidos por Ahn y cols. (1994), en el grupo caucásico no hispano, mostrando un efecto específico de género y limitado a las mujeres postmenopáusicas de la población estudiada.

Por otra parte, Pongrapeeporn y cols. (2000), en individuos de Taiwán, encontraron asociación entre la presencia de *AvaII*, y el aumento de las concentraciones de los triglicéridos. Mientras que Nakazone y cols. (2009), reportaron tal asociación sólo para el *HincII*. Estos resultados son contradictorios de acuerdo a lo expuesto por otros autores, quienes señalan que las mutaciones que suprimen la expresión del LDLR tienen relativamente poca influencia sobre los niveles de triglicéridos o HDL-c. No obstante, no se descarta la influencia que pueden ejercer diferentes polimorfismos ubicados en otros genes y potenciados por diversos factores ambientales (Nakazone y cols., 2009).

Aunque el sitio de restricción polimórfico *AvaII* en este estudio, solo presentó asociación significativa con los niveles de triglicéridos y VLDL-c, otros reportes han señalado relación con el colesterol total y LDL-c. Ahn y cols. (1994), plantearon

asociación de ambas variables en un grupo de mujeres hispanas y no hispanas del Valle de San Luis; alegando que las variaciones en el LDLR contribuyen a determinar los niveles de colesterol en personas normolipidémicas. Igualmente, Salazar y cols. (1999), indicaron que *AvaII* conjuntamente con *HincII*, contribuyen a la variabilidad de los niveles del colesterol total y LDL-c, en individuos de Brasil con alto riesgo de padecer enfermedades coronarias. Pongrapeeporn y cols. (2000), además de reportar asociación de *AvaII* con las concentraciones de triglicéridos, también mostraron relación con los niveles de colesterol total de individuos de Taiwán; deduciendo que los polimorfismos en el LDLR, son útiles marcadores genéticos para predecir enfermedades cardiovasculares. Por su parte, Mattevi y cols. (2000), encontraron asociación de *AvaII* con el IMC, sugiriendo que el gen LDLR tiene influencia sobre las células adiposas en los tejidos.

Con respecto a los valores de los parámetros bioquímicos y antropométricos obtenidos en este estudio, no se observaron diferencias significativas por género. Vale la pena señalar que estas variaciones en el gen LDLR son de tipo autosómicas, es decir, que no se encuentran ligadas al sexo. Estos resultados son similares a los encontrados por varios autores, no obstante, para los sitios de restricción polimórficos *AvaII* y *HincII* se han reportado diferencias significativas de colesterol total, considerando cada sexo por separado. Es importante destacar que los agentes biológicos como el estatus hormonal potenciados con múltiples factores ambientales pueden ocasionar estas diferencias por género (Anh y cols. 1994; Zhu y cols., 2007).

Los reportes disponibles hasta los momentos, señalan que los polimorfismos estudiados presentan frecuencias variables en las diferentes poblaciones analizadas. Para *TaqI*, se presentan frecuencias mayores en Asia (46,50-52,00%) (Yamakawa y cols., 1991; Chae y cols., 2001), y menores en África (3,60%) (Kotze y cols., 1989). En el sitio polimórfico *HincII* los valores más elevados son en América de 45,00 a 90,00% (Haviland y cols., 1997; Boright y cols., 1998; Salazar y cols., 1999; Mattevi

y cols., 2000; Nakazone y cols., 2009), y Asia (hasta 86,20%) (Chae y cols., 2001). Para *AvaII* las proporciones en América van desde 36,00 hasta 73,00% (Ahn y cols., 1994; Haviland y cols., 1997; Salazar y cols., 1999; Mattevi y cols., 2000; Nakazone y cols., 2009) superando las de Asia (15,00-67,00%) (Yamakawa y cols., 1991; Chae y cols., 2001; Guo y cols., 2002; Liu y cols., 2003) y Europa (6,30-49,00%) (Humphries y cols., 1993; Miserez y cols., 1993; Chaves y cols., 1996). En general los países más estudiados son los europeos y los menos analizados son los del continente africano. Mientras que en América van dirigidos a Estados Unidos (Kotze y cols., 1989; Humphries y cols., 1993; Ahn y cols., 1994; Chaves y cols., 1996; Mattevi y cols., 2000; Chae y cols., 2001; Guo y cols., 2002; Zhu y cols. 2007).

A pesar de que el análisis de estos sitios de restricción se ha realizado en diversas zonas, con un predominio en el continente europeo, aún no se dispone suficiente información al respecto, lo que dificulta precisar la existencia de un patrón geográfico particular. Sin embargo, es importante tomar en cuenta las variaciones en las zonas investigadas, sobre todo en estudios realizados en el continente americano, debido a que estas poblaciones presentan un alto grado de variabilidad genética producto del proceso de colonización y se requiere de un criterio estricto de selección de la muestra, para evitar problemas de interpretación de resultados, debido al fenómeno de estratificación poblacional.

En Venezuela, estudios realizados por Rodríguez-Larralde y cols. (2000; 2001), en diferentes regiones del país, utilizando la distribución de los apellidos y los grupos ABO y Rh, hacen referencia de una gran heterogeneidad, las cuales, podrían ser producto de aportes diferenciales de los distintos grupos poblacionales que han contribuido a la estructura de la misma, donde se establece que ha recibido genes europeos y africanos en distintas proporciones, señalando un aporte de origen español de 58,80%, seguido del amerindio (28,50%) y por último del componente africano (12,60%). Así mismo, en la región oriental venezolana conformada por los estados

Anzoátegui, Bolívar, Monagas, Sucre y Nueva Esparta, se señala que el porcentaje a partir del análisis de grupo sanguíneo ABO y Rh para el aporte europeo fue de 42,30%, un 33,00% para el amerindio y un 24,70% para el africano (Rodríguez-Larralde y cols., 2001). Por su parte, Vivenes y cols. (2005; 2008) encontraron tendencias similares en individuos de los estados Monagas, Sucre y Nueva Esparta.

Los hallazgos señalados en estudios previos, permitieron deducir que en Venezuela, el proceso de conquista y colonización fue violento y en poco tiempo diezmó en forma apreciable la población aborígen, con un flujo migratorio constante desde Europa, mayoritariamente de origen español (Rodríguez-Arroyo y cols., 2000; 2001; Vivenes y cols., 2005; 2008). Es importante considerar en el país el estudio genético por regiones, tomando en cuenta los criterios de selección para una mejor interpretación de resultados (Rodríguez-Arroyo y cols., 2000).

En un estudio preliminar, Rodríguez-Arroyo y cols. (2008), evaluaron los polimorfismos *TaqI*, *HincII*, *AvaII*, *MspI* y *NcoI* del gen LDLR, y sus posibles asociaciones con las condiciones de sobrepeso/obesidad en 41 individuos del estado Sucre, Venezuela, siguiendo los criterios de selección con respecto a la procedencia familiar, con la finalidad de mantener la homogeneidad genética de los individuos analizados. Se encontró que *TaqI* (+/-) se asoció con alto riesgo de padecer ECNT según la C.CIN, y con mayores promedios de P, IMC, índice de conicidad (IC) e ICC; mientras que *HincII* (+/+) se asoció con mayores promedios de colesterol total. Además, *AvaII* (+/+) se caracterizó con menores promedios de HDL. Por otra parte, los sitios polimórficos *MspI* (-/-) y *NcoI* (+/+) se asociaron con altas probabilidades de sufrir ECNT de acuerdo al ICC. Estos datos sugieren una susceptibilidad a padecer sobrepeso/obesidad en individuos del estado Sucre, similar a los estudios previos realizados por Mattevi y cols. (2000) en individuos nativos de Brasil.

El carácter polimórfico del LDLR ha sido demostrado por la existencia de

RFLPs dentro del gen, los cuales pueden utilizarse como marcadores genéticos para la construcción de haplotipos, que consisten en la combinación particular de una serie de sitios de restricción encontrados en una región específica del cromosoma y que son heredados en bloques, de generación en generación. Además de su uso en estudios familiares, el análisis de haplotipos se ha aplicado en investigaciones poblacionales y puede ser útil para determinar el origen y la migración particular de los alelos mutantes en el locus del LDLR (Wainscoat y cols., 1983; Chakravarti y cols., 1984; Orkin y Kazazian, 1984; Lewin y cols., 1996).

Estudios realizados por Miserez y cols. (1993), en Suiza y Alemania comparadas con otras cuatro poblaciones, analizadas previamente como Italia, por Daga y cols. (1990); América del Norte, por Leitersdorf y cols. (1989); Sudáfrica, por Kotze y cols. (1989) y Japón por Yamakawa y cols. (1991), demostraron que las frecuencias de estos sitios polimórficos difieren significativamente según el origen poblacional. Posteriormente, Chaves y cols. (1996), estudiaron siete polimorfismos (*TaqI*, *HincII*, *Avall*, *Stul*, *PvuII* y *NcoI*) en España, para la construcción de haplotipos, observando un predominio de los mismos, destacados en Suiza y Alemania, sin embargo, la frecuencia individual de *Avall* y *NcoI*, es diferente de las poblaciones europeas como Noruega según el análisis de Rodningen y cols. (1993), lo que demuestra la alta heterogeneidad del gen LDLR, sugerido por Chaves y cols. (1996) y por Miserez y cols. (1993).

Es difícil establecer comparaciones de los resultados obtenidos por Mattevi y cols. (2000), en poblaciones amerindias de Brasil, con los reportados para europeos o asiáticos, debido a que el conjunto de RFLPs utilizados para obtener haplotipos difieren en todas las investigaciones. Sin embargo, la heterogeneidad genética o distribución heterogénea observada en las tribus brasileñas es tan alta como las encontradas en ambos

continentes. El orden en que los sitios deben ser elegidos, se basa no sólo en el grado de información que proporciona un RFLP, sino también en su utilidad conjunta con otros (Kotze y cols. 1989; Leitersdorf y cols. 1989; Taylor y cols. 1989; Daga y cols. 1990; Yamakawa y cols. 1991; Miserez y cols. 1993).

Estudios realizados en amerindios brasileños han demostrado que, éstos constituyen un excelente grupo para investigar la interrelación entre la obesidad y la genética, ya que tienen una relativa homogeneidad y no presentan ninguno o pocos niveles de mezcla con poblaciones no indígenas. Además, su dieta tradicional, hábitos y estilo de vida también difieren de las de otras sociedades occidentales. Los datos epidemiológicos aún cuando son escasos, muestran una baja frecuencia de las enfermedades cardiovasculares y pocos individuos afectados con niveles anormales de lípidos en plasma. Esta situación parece estar cambiando en muchas poblaciones, particularmente en aquellas que han tenido una fuerte interacción con grupos no indígenas y que han experimentado una marcada transformación en sus hábitos nutricionales y estilo de vida (Salzano y Callegari-Jacques, 1988; Santos y Coimbra, 1996).

La correlación entre el genotipo y el fenotipo de la mayoría de las mutaciones en el gen LDLR no están definidas claramente, debido a insuficientes datos clínicos en varios reportes y por la gran variabilidad entre los grupos poblacionales estudiados. Muchos rasgos complejos, como la obesidad, dependen de la interacción de varios genes y factores externos, que generan esta condición desfavorable de salud, caracterizada por un incremento excesivo de la grasa corporal, originado por un balance energético positivo mantenido en el tiempo (Després y cols., 1992; Mattevi y cols., 2000).

Estudios de epidemiología genética han demostrado que, el nivel de grasa corporal total y la distribución en el tejido adiposo de los seres humanos tienen un importante componente genético, estimado como alrededor del 25,00%. Los genes relevantes para el metabolismo de las lipoproteínas se encuentran entre los muchos posibles "genes candidatos", dentro de los cuales se pueden mencionar el gen LDLR, LEP (Leptina), APO-IV (Apolipoproteína A-IV), POMC (Proopiomelanocortina) y MC4R (receptor 4 melanocortina), entre otros, pudiendo ser los responsables de esta variación genética que conllevan a alterar los mecanismos biológicos de regulación del peso corporal, y se ve favorecido por la influencia de factores ambientales, tales como los malos hábitos alimenticios, el sedentarismo, tabaquismo, consumo de alcohol, entre otros (Martínez, 2000; Mattevi y cols., 2000; Speakman, 2004).

En muchos países, la prevalencia de obesidad ha aumentado notablemente, debido a cambios sociales, especialmente en aquellos que han cambiado sus hábitos hacia una forma de vida occidental, llevando a una mayor disponibilidad de alimentos, así como un progresivo descenso de la actividad física. La obesidad constituye un factor de riesgo frente a numerosas enfermedades crónicas, tales como la diabetes mellitus, hipertensión, enfermedades cardiovasculares y dislipidemias. La población venezolana, al igual que otros países subdesarrollados, está experimentando estos cambios en sus hábitos nutricionales y estilo de vida (Prentice y Jebb, 1995; Santos y cols., 2005; Cañete y Gil, 2007).

De acuerdo a los datos suministrados en las encuestas realizadas en el presente trabajo, se encontró que el 9,87% presentaban antecedentes familiares asociados a hipertensión (HTA), hipercolesterolemia (Hcol), hipertrigliceridemia (Htg), enfermedades cardiovasculares (ECV) y diabetes, evidenciando que una proporción importante de estos individuos tienen un riesgo elevado de sufrir estas enfermedades. Los individuos con antecedentes familiares suelen presentar mayor riesgo de sufrir

estas enfermedades, puesto que las mismas, poseen un componente genético (Escolar y cols., 2003).

Por otra parte, se encontró que 6,17% eran exfumadores y el 4,94% fumaban, es decir, que la población estudiada mostró un riesgo de un 11,11% de padecer enfermedades asociadas con el tabaquismo. En relación al consumo de bebidas alcohólicas, reportaron ingerir de manera ocasional (45,68%), mensual (23,46%) y semanalmente (8,64%), mientras que, sólo el 22,22% señaló no haber ingerido nunca este tipo de bebidas. El exceso de alcohol es uno de los factores causantes para el desarrollo de enfermedades vasculares, debido a alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos y las lipoproteínas (Bermúdez-Pireda y cols., 2003).

En relación a la realización de actividades físicas, el 35,80% no practican deportes, el 34,57% lo hacen de manera moderada y sólo el 29,63% tienen actividad de forma frecuente o son deportistas. La práctica de la actividad física en forma sistemática y regular mejora la posición corporal, además de ser un factor protector para el mantenimiento de la salud en general; en cambio el sedentarismo se relaciona con el aumento de peso corporal por un desbalance entre el ingreso y el gasto de calorías, que puede alcanzar niveles catalogados como obesidad (Escolar y cols., 2003).

Los hábitos alimenticios, han sido identificados como una de las causas determinantes del estado nutricional del individuo y el consumo inadecuado de éstos, también son importantes factores para la aparición de enfermedades degenerativas (Pérula y cols., 1998; Palma, 2004). En la población evaluada en este estudio, los individuos presentaron un ingesta balanceada de alimentos, basado en el consumo de carne de res (69,14%), pollo (44,44%) pescado (46,91%), mientras que la carne de cerdo (75,31%) la ingieren de modo ocasional o una a tres veces por mes. Así mismo, las frutas (43,21%), ensaladas (51,86%), vegetales cocidos (38,27%), tubérculos

(35,80%) y granos (30,86%), lo consumen de manera balanceada. Sin embargo, la mayoría de la población ingieren diariamente, el azúcar refinada (87,67%), aceite comestible (64,19%), margarina (49,39%) y el café (40,74%), productos que favorecen la aparición de ECNT, debido al alto grado energético que contienen (Anexo 14).

En vista que las ECNT constituyen una causa de muerte en el mundo, incluyendo Venezuela y su aparición involucra la interacción entre factores genéticos y ambientales. Se considera importante el análisis de las frecuencias de los polimorfismos en el gen LDLR, los cuales, pueden ser significativos en la pvariabilidad del perfil lipídico, útiles para determinar la susceptibilidad o la resistencia de estas patologías. Por lo tanto, futuros estudios serán necesarios para identificar las relaciones moleculares entre los sitios de restricción polimórficos *TaqI*, *HincII* y *Avall*, además de otras variantes en el gen LDLR.

CONCLUSIONES

La frecuencia alélica del sitio restricción polimórfico *TaqI* (11,00%) en individuos del estado Sucre, se aproxima a las de algunas poblaciones europeas y de Estados Unidos.

La ausencia de reportes sobre las frecuencias genotípicas de *TaqI* dificultan las comparaciones para el análisis poblacional en diferentes continentes.

La frecuencia alélica del sitio de restricción polimórfico *HincII* (72,00%) en individuos sucrenses se aproxima a la de la población de Mongolia (76,53%) y Rusia (75,65%).

La frecuencia alélica de *HincII* en este estudio, es la más alta encontrada hasta los momentos en el continente americano, exceptuando algunas poblaciones amerindias de Brasil.

El sitio de restricción polimórfico *AvaII* presenta frecuencias aproximadas a las reportadas para poblaciones de Europa y Sur África, las cuales han participado en el proceso de colonización venezolana.

Las frecuencias genotípicas encontradas para *HincII* y *AvaII* en esta investigación, difieren de la mayoría de los grupos estudiados, a excepción de la población de Mongolia para el polimorfismo *HincII*.

El gen LDLR presenta heterogeneidad variable, en relación con los sitios de restricción analizados.

La población del estado Sucre analizada se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg, en relación a los tres sistemas evaluados.

No existe asociación de las variables bioquímicas y antropométricas con los genotipos de los sitios de restricción *TaqI* y *HincII* estudiados.

El sitio de restricción *AvaII* presenta asociación con los niveles de triglicéridos y VLDL-c en los individuos del estado Sucre.

RECOMENDACIONES

Estudiar los sitios de restricción polimórficos *TaqI*, *HincII* y *AvaII* en las diferentes regiones de Venezuela, para evaluar si se mantienen las mismas tendencias alélicas y genotípicas.

Aumentar el número de RFLPs para determinar si presentan asociación con los niveles lipídicos y los parámetros antropométricos en la población venezolana.

Estudiar si existen asociaciones de *TaqI*, *HincII* y *AvaII* con ECNT, tomando en cuenta los niveles de lípidos plasmáticos y los parámetros antropométricos.

Realizar la construcción de haplotipos y análisis de ligamiento para evaluar la herencia de enfermedades coronarias en las familias venezolanas.

BIBLIOGRAFÍA

Ahn, Y.; Kamboh, M.; Aston, C.; Ferrell, R. y Hamman, R. 1994. Role of common genetic polymorphisms in the LDL receptor gene in affecting plasma cholesterol levels in the general population. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology, 14: 663-670.

Aranceta J.; Pérez, C.; Serra, L.; Ribas, L.; Quiles, J.; Vioque, J. y Foz, M. Prevalencia de obesidad en España: resultados del estudio SEEDO 2000. Medicina Clínica (Barcelona), 115: 587-597.

Arráiz, N. 2007. Alteraciones en genes del metabolismo lipídico y enfermedades cardiovasculares. Archivos Venezolanos Farmacológicos y Terapéutico, 26(1): 1-9.

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 de Alimentación y Nutrición, 16(1): 42-47.

Berkman, N.; Bruce, W.; Sigal, S.; Ayeleth, R. y Leitersdorf, E. 1992. Haplotype analysis at the low density lipoprotein receptor locus: application to the study of family hypercholesterolemia in Israel. Human Genetics, 88: 405-410.

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.

Boright, A.; Connely, P.; Brunt, J.; Morgan, K y Hegele, R. 1998. Association and linkage of LDLR gene variation with variation in plasma low density lipoprotein cholesterol. Journal Human Genetics, 43: 153-159.

Boronat, M.; Parra, M.; Albaladejo, M. y Martínez, P. 2005. LDL oxidada: el cuarto colesterol. Asociación Española de Farmacéuticos Analista Modesto Lafuente, 3: 1-10.

Brown, M. y Goldstein, J. 1986. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. Science, 232: 34-47

Cañete, R. y Gil, M. 2007. Nuevos aspectos de la obesidad. Vox Pediátrica, 15(1): 44-49.

Chakravarti, A.; Phillips, A.; Mellits, K.; Buetow, K. y Seeburg, P. 1984. Patterns of polymorphism and linkage disequilibrium suggest independent origins of the human growth hormone gene cluster. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 81: 6085-6089.

Chae, J.; Kim, S.; Kim, U.; Hong, S.; Kim, Y.; Namkoong, Y.; Park, Y. y Lee C. 2001. Polymorphic DNA haplotypes at the human low-density lipoprotein receptor gene locus in Koreans. Human Biology, 73(1): 105-119.

Couture, P.; Morissette, J.; Gaudet, D.; Vohl, M.; Gagné, C.; Bergeron, J.; Pierre, J.; Després, J. y Simard, J. 1999. Fine mapping of low-density lipoprotein receptor gene by genetic linkage on chromosome 19p13.1-p13.3 and study of the founder effect of four French Canadian low-density lipoprotein receptor gene mutations. Atherosclerosis, 143: 1145-1151.

Chaves, F.; Puig, O.; García-Sogo, M.; Real, J.; Gil, J.; Ascaso, J.; Carmena, F. y Armengod, M. 1996. Seven DNA polymorphisms in the LDL receptor gene: application to the study of familial hypercholesterolemia in Spain. Clinical Genetics, 50: 28-35.

Colpo, A. 2005. LDL Cholesterol: bad cholesterol, or bad science? Journal of American Physicians and Surgeons, 10(3): 83-89.

Crown, J. 1999. Hardy Weinberg and language impediments. Genetics, 152: 821-825.

Daga, A.; Mattioni, T.; Balestreri, R.; Coviello, D.; Corte, G. y Bertolini, S. 1990. Use of three DNA polymorphisms of the LDL receptor gene in the diagnosis of familial hypercholesterolemia. Human Genetics, 84: 412-416.

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.

Després, J.; Moorjani, S.; Lupine P.; Temblblay A.; Nadeu A. y Bouchard C. 1992.

Genetic aspects of susceptibility to obesity and related dyslipidemias. Molecular and Cellular Biochemistry, 113: 151-169.

Devlin, T. 2004. Bioquímica: Libro de texto con aplicaciones clínica. Quinta edición. Editorial Reverté. España.

Díaz, J. y Fernández. M. 1996. Aspectos Básicos de Bioquímica Clínica. Ediciones Díaz de Santo. S.A. Madrid-España.

Díaz, N.; Páez, M. y Solano, L. 2002. Situación nutricional por estrato social en niños escolarizados venezolanos. Acta Científica Venezolana, 53: 284-289.

Escolar, J.; Perez, C. y Corrales, R. 2003. Actividad física y enfermedad. Anales de Medicina Interna, 20(8): 43-49.

Fu, Y.; Katsuya, T.; Higaki, J.; Asai, T.; Fukuda, M.; Takiuchi, S.; Hatanaka, Y.; Rakugi, H. y Ogihara, T. 2001. A common mutation of low-density lipoprotein receptor gene is associated with essential hypertension among japanese. Journal of Human Hypertension, 15: 125-130.

Geisel, J.; Weishaar, B.; Oette, K.; Mechtel, M. y Doerffler, W. 1987. Double *MspI* RFLP in the human LDL receptor gene. Nucleic Acids Research, 15: 3943.

Goldstein, J.; Hobbs, H. y Brown, M. 2001. Familial hypercholesterolemia. En: The metabolic basis of inherited disease. Scriver, C.; Beaudet, A; Sly, W. y Valle (eds). Octava edición. New York McGraw-Hill Inc.

Gordon, T.; Kannel, W.; Castelli, W. y Dawber, T. 1981. Lipoproteins, cardiovascular disease and death. The Framingham Study. Archives of Internal Medicine, 141: 1128-1131.

Granado, A. 2008. Obesidad, sobrepeso y algunos factores de riesgo relacionado en escolares del 4to grado en la Unidad Educativa María Ledezma del Ujano y el Colegio Independencia. Trabajo de Grado. Departamento de Puericultura y Pediatría. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado. Barquisimeto.

Guo, Y.; Guo, J.; Zheng, D.; Pan, L.; Li, Q. y Ruan, G. 2002. Relationship between the *NcoI*, *AvaII* receptor gene polymorphism of low density lipoprotein atherosclerotic stroke. Zhonghua Yi Xue Za Yi Chuan Xue Zhi, 19(3): 209-212.

Haviland, M.; Ferrell, R. y Sing, C. 1997. Association between common alleles of the low-density lipoprotein receptor gene region and interindividual variation in plasma

lipid and lipoprotein levels in a population-based sample from Rochester, Minnesota. Human Genetics, 99: 108-114.

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

Hernández, R; Pérez, A y Herrera, H. 2007. Estado Nutricional de niños en colegios privados y zonas suburbanas de los Municipios Baruta y el Hatillo de Caracas. Anales Venezolanos de Nutrición, 20(2): 65-70.

Hobbs, H.; Esser, V. y Russell, D. 1987. *Ava*II polymorphism in the human LDL receptor gene. Nucleic Acids Research, 15: 379.

Hobbs, H.; Russell, D.; Brown, M. y Goldstein, J. 1990. The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia: Mutational analysis of a membrane protein. Annual Review of Genetics, 24: 133-170.

Hobbs, H.; Brown, M. y Goldstein, J. 1992. Molecular genetics of the LDL receptor gene in family hypercholesterolemia. Human Mutation, 1: 445-466.

Horinek, U.; Slézka, V.; Sobra, J. y Ceska, R. 1995. DNA analysis in heterozygotes in familial hypercholesterolemia. Cas Cesk Lek, 134(8): 234-239.

Humphries, S.; King-Underwood, L.; Gudnason, V.; Seed, M.; Delattre, S.; Clavey, V. y Fruchart, J. 1993. Six DNA polymorphisms in the low density lipoprotein receptor gene: their genetic relationship and an example of their use for identifying affected relatives of patients with familial hypercholesterolemia. Journal of Medical Genetics, 30: 273-279.

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.

Kathiresan, S.; Melander, O.; Guiducci, C.; Surti, A.; Burt, N.; Rieder, M; Cooper, G.; Roos, G.; Voight, B.; Havulinna, A.; Wahlstrand, B.; Hedner, T.; Corella, D.; Tai, E.; Ordovas, J.; Berglund, G.; Vartiainen, E.; Jousilahti, P.; Hedblad, B.; Taskinen, M.; Newton, C.; Salomaa, V.; Peltonen, L.; Groop, L.; Altshuler, D. y Orho-Melander, M. 2008. Six new loci associated with blood low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol or triglycerides in humans. Nature Genetics, 40: 189-197.

Kotze, M.; Langenhoven, E.; Dietzsch, E. y Retief, A. 1987. A RFLP association with the low density lipoprotein receptor gene (LDLR). Nucleic Acids Research,

15(1): 376.

Kotze, M.; Langenhoven, E.; Retief, A.; Seftel, H.; Henderson, H. y Weich, H. 1989. Haplotypes identified by 10 DNA restriction fragment length polymorphisms at the human low density lipoprotein receptor gene locus. Journal of Medical Genetics, 26: 255-259

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

Leitersdorf, E. y Hobbs, H. 1988. Human LDL receptor gene: *HincII* polymorphism detected by gene amplification. Nucleic Acids Research, 16: 7215.

Leitersdorf, E.; Chakravarti, A. y Hobbs, H. 1989. Polymorphic DNA haplotypes at the LDL receptor locus. The American Journal of Human Genetics, 44: 409-421.

Lewin, B.; Aguilera, A.; Casadejesús, J. y Casadesús, J. 1996. Genes. Segunda edición. Editorial Revertés, S.A. Madrid-España.

Liu, A.; Zhan, S.; Li, L.; Hu, Y.; Cao, W.; Wu, T.; Li, J. y Guo, X. 2003. Association Between *AvaII* exon 13 polymorphism at the LDL receptor gene and serum lipid different levels in normotensive and essential hypertensives in Shanghai. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi, 24(7): 542-546.

Martínez J. 2000. Body-weight regulation: causes of obesity. Proceedings of the Nutrition Society, 59: 337-345.

Mattevi, V.; Coimbra, C.; Santos, R.; Salzano, F. y Hutz, M. 2000. Association of the low-density lipoprotein receptor gene with obesity in native American populations. Human Genetics, 106: 546-552.

Mckenzie, S. 2000. Hematología clínica. Segunda edición. El Manual Moderno. México D.F.

Miserez, A.; Schuster, H.; Chiodetti, N. y Keller, U. 1993. Polymorphic haplotypes and recombination rates at the LDL receptor gene locus in subjects with and without familial hypercholesterolemia who are from different population. The American Journal of Human Genetics, 52: 808-826.

Nakazone, A.; De Marchi, M.; Pinhel, M.; Barros, C.; Júlio, M.; Pinheiro, A.; Arazi, S.; Hotta, J.; Hirata, M.; Hirata, R.; Santos, J. y Souza, D. 2009. Effects of APOE, APOB and LDLR variants on serum lipids and lack of association with xanthelasma in individuals from Southeastern Brazil. Genetics and Molecular Biology, 32(2): 227-

233.

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

Ninsha, E.; Kaur, G.; Prakash, B.; Kumar, P.; Nava, K. 2010. LDL-R *AvaII* and *NcoI* Polymorphisms: An indirect risk factor for coronary heart disease among a mendelian population of Delhi, India. Biochemical Genetics, 48(9): 807-815.

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.

O P S-O MS. 2003. Régimen alimentario, nutrición y actividad física. Sesión del Comité Ejecutivo, 132: 23-27.

Orkin, S. y Kazazian, J. 1984. The mutation and polymorphism of the human 3-globin gene and its surrounding DNA. Annual Review of Genetics, 18: 131-171.

Oviedo, G.; Morón, A. y Solano, L. 2001. Estado nutricional en niños de 1 a 7 años en una población suburbana de Valencia. Anales Venezolanos de Nutrición, 14(2): 70-74.

Palma, I. 2004. Hábitos alimentarios y actividad física en el tiempo libre de las mujeres adultas Catalanas. Tesis Doctoral. Departamento. Salud Pública. Facultad de Medicina. Universidad de Barcelona. España.

Pérula, L.; Herrera, E.; De Miguel, M. y Lora, N. 1998. Hábitos alimentarios de los escolares de una zona básica de salud de Córdoba. Revista Española de Salud Pública, 72: 147-150.

Petrishchev, V.; Sambuungiin, O. y Rychkov Y. 1992. DNA polymorphism in the russian population. Analysis of DNA restriction fragment length in seven nuclear genome loci. Soviet Genetics, 28(5): 649-654.

Pocoví, M. y Catillo, S. 2002. Genética de las hipercolesterolemias familiares. Métodos de diagnóstico. Factores de Riesgo Cardiovascular, 11(3): 144-156.

Pongrapeeporn, K.; Pimsawat, T.; Likidilid, A.; Poldee, S.; Yamwong, P.; Amomrattana, A. y Ong-Ajyooth, S. 2000. Effect of *AvaII* and *NcoI* polymorphisms at the low density lipoprotein receptor gene on plasma lipid levels in a group of Thai

subjects. Journal of The Medical Association of Thailand, 83: 74-80.

Prentice, A. y Jebb S. 1995. Obesity in Britain: gluttony or sloth? British Medical Journal, 311: 437-439.

Quijada, M.; Troconis, V.; Peña, D. y Rodríguez, A. 2008. Prevalencia de obesidad en criollos e indígenas Yaruros de La Urbana, Bolívar. Acta Científica Estudiantil, 6(3): 135-148.

Rader, d.; Cohen, J. y Hobbs, H. 2003. Monogenic hypercholesterolemia: New insights in pathogenesis and treatment. The Journal of Clinical Investigation, 111: 1795-1803.

Reed, T. y Schull, W. 1968. A general maximum likelihood estimation program. The American Journal of 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.

Ribas, L. 2008. Genes implicados en las formas monogénicas de la hipercolesterolemia familiar. Revista de Endocrinología y Nutrición, 16(1): 24-31.

Rodningen, O.; Leren, T.; Resby, O.; Tonstad, S.; Ose, L. y Berg, K. 1993. Haplotype analysis at the low density lipoprotein receptor locus in normal and familiar hypercholesterolemia Norwegian subjects. Clinical Genetics, 44: 214-220.

Rodríguez-Arroyo, G.; Paradisi, I.; Vívenes, 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, D. 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.

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

Rodríguez-Larralde, A; Morales, J. y Barri, J. 2000. Surname frequency and the isonymy structure of Venezuela. American Journal of Human Biology, 12: 352-362.

Russell, D.; Yamamoto, T.; Schneider, W.; Slaughter, C.; Brown, M. y Goldstein, J. 1983. cDNA cloning of the bovine low density lipoprotein receptor: Feedback regulation of a receptor mRNA. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 80: 7501-7505.

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.

Salazar, L.; Cavalli, S.; Hirata, M.; Diament, J.; Forti, N.; Giannini, S.; Nakandakare, E.; Bertolami, M. y Hirata, R. 2000. Polymorphisms of the low-density lipoprotein receptor gene in Brazilian individuals with heterozygous familial hypercholesterolemia. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 33: 1301-1304.

Salazar, L.; Hirata, M.; Giannini, S.; Forti, N.; Diament, J.; Issa, J. y Hirata, R. 1999. Effects of *AvaII* and *HincII* Polymorphisms at the LDL receptor gene on serum lipid levels of Brazilian individuals with high risk for coronary heart disease. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 13: 251-258.

Salzano, F. y Callegari-Jacques, S. 1988. South American Indians: a case study in evolution. Clarendon Press, Oxford. P1-26.

Sambuugiin, N.; Petrishchev, V. y Rychokov, Y. 1992. DNA polymorphism in the population of Mongolia. Analysis of polymorphism for lengths of DNA restriction fragments in seven loci of nuclear genomes. Soviet Genetics, 27(12): 1527-1531.

Sandhu, M.; Waterworth, D.; Debenham, S.; Wheeler, W.; Papadakis, K.; Zhao, J.; Song, K.; Yuan, X.; Johnson, T.; Ashford, S.; Inouye, M.; Luben, R.; Sims, M.; Hadley, D.; McArdle, W.; Barter, F.; Kesäniemi, Y.; Mahley, R.; McPherson, R.; Grundy, S.; Bingham, S.; Khaw, K.; Loos, R.; Waeber, G.; Barroso, I.; Strachan, D.; Deloukas, P.; Vollenweider, P.; Wareham, N. y Mooser, V. 2008. LDL-cholesterol concentrations: a genome-wide association study. The Lancet, 371: 483-491.

Santos, R. y Coimbra, J. 1996. Socioeconomic differentiation and body morphology in the Suruí of southwestern Amazonia. Current Anthropology, 37: 851-856.

Santos, J.; Martínez, J.; Pérez, F. y Albala, C. 2005. Epidemiología genética de la obesidad: estudios familiares. Revista Médica de Chile, 133: 349-361

Sokal, R. y Rohlf, J. 1981. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. Editorial H. Bllume. Madrid.

Solano, L.; Barón, M. y Real, S. 2005. Situación Nutricional de preescolares, escolares y adolescentes de Carabobo, Venezuela. Anales Venezolanos de Nutrición, 18(1): 19-28.

Speakman, J. 2004. Obesity: The integrated roles of environment of genetics. Journal of Nutrition, 134(8): 2090-2105.

Südhof, T.; Goldstein, J.; Brown, M. y Russell, D. 1985. The LDL receptor gene: A mosaic of exons shared with different proteins. Science, 228: 815-822.

Sun, X.; Webb, J.; Gudnason, V.; Humphries, S.; Seed, M.; Thompson, G.; Knight, B. y Soutar, A. 1992. Characterization of delectins in the LDL receptor gene in patients with familial hypercholesterolemia in the United Kingdom. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology, 12: 762-770.

Taylor, R.; Bryant, J.; Gudnason, V.; Sigurdsson, G. y Humphries, S. 1989. A study of familial hypercholesterolemia in Iceland using RFLPs. Journal of Medical Genetics, 26: 494-498.

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

Varret, M.; Rabés, J.; Thiart, R.; Kotze, M.; Baron, H.; Cenarro, A.; Descamps, O.; Ebhardt, M.; Hondelijn, J.; Kostner, G.; Miyake, Y.; Pocovi, M.; Schmidt, H.; Schmidt, H.; Schuster, H.; Stuhmann, M.; Yamamura, T.; Junien, C.; Bérout, C. y Boileau, C. 1998. LDLR Database (second edition): new additions to the database and the software, and results of the first molecular analysis. Nucleic Acids Research, 25(1): 172-180.

Vella, J. 1992. ¿Colesterol contenido en las Lipoproteinas de Baja Densidad o Apolipoproteina B en la predicción del riesgo cardiovascular? Revista Española de Salud Pública, 66: 251-255.

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

Vívenes, M.; Rodríguez-Larralde, A.; Guerrero B. y Castro, D. 2008. Ethnic/geographic variation of the Val34Leu polymorphism of coagulation Factor XIII and its distribution in American admixed populations. The Internet Journal of Biological Anthropology, 2(1): 1-4.

Wainscoat, J.; Bell, J.; Thein, S.; Higgs, D.; Sarjeant, G.; Peto, T. y Weatherall, D. 1983. Multiple origins of the sickle mutation: evidence from the Ps3 globin gene cluster polymorphisms. Molecular Biology and Medicine, 1: 191-197.

Wang, D.; Fan, J.; Siao, C.; Berno, A.; Young, P.; Sapolsky, R.; Ghandour, G.; Perkins, N.; Winchester, E.; Spencer, J.; Kruglyak, L.; Stein, L.; Hsie, L.; Topaloglou, T.; Hubbell, E.; Robinson, E.; Mittmann, M.; Morris, M.; Shen, N.; Kilburn, D.; Rioux, J.; Nusbaum, C.; Rozen, S.; Hudson, T.; Lipshutz, R.; Chee, M. y Lander, E. 1998. Large-scale identification, mapping and genotyping of single nucleotide polymorphisms in the human genome. Science, 280: 1077-1082.

Willer, C.; Sanna, S.; Jackson, A.; Scuteri, A.; Bonnycastle, L.; Clarke, R.; Heath, S.; Timpson, N.; Najjar, S.; Stringham, H.; Strait, J.; Duren, W.; Maschio, A.; Busonero, F.; Mulas, M.; Albai, G.; Swiff, A.; Morken, M.; Narisu, N.; Bennett, D.; Parish, P.; Shen, H.; Galan, P.; Meneton, P.; Hercberg, S.; Zelenik, D.; Chen, W.; Li, Y.; Scott, L.; Scheet, P.; Sundvall, J.; Watanabe, R.; Nagaraja, R.; Ebrahim, C.; Lawlor, D.; Ben-Shlomo, Y.; Davey-Smith, G.; Shuldiner, A.; Collins, R.; Bergman, R.; Uda, M.; Tuomilehto, J.; Cao, A.; Collins, F.; Lakatta, E.; Lathrop, G.; Boehnke, M.; Schlessinger, D.; Mohlke, K. y Abecasis, G. 2008. Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease. Nature Genetics, 40(2): 161-169.

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

Wu, S.; Xiang, K.; Sun, D.; Wang, Y.; Pu, L. y Lu, H. 1995. Relationship of LDL receptor gene polymorphism and NIDDM in Chinese. Chinese Medical Journal, 108: 10-14.

Yamakawa, K.; Okafuji, T.; Iwamura, Y.; Russell, D. y Hamaguchi, H. 1987. *TaqI* polymorphism in the human gene. Nucleic Acids Research, 15(18): 7659.

Yamakawa, K.; Okafuji, T.; Iwamura, Y.; Yuzawa, K.; Satoh, J.; Hattori, N.; Yamanouchi, Y.; Yanagi, H.; Kawai, K.; Tsuchiya, S.; Russell, D. y Hamaguchi, H. 1988. *TaqI* polymorphism in the LDL receptor gene and a *TaqI* 1.5-kb band associated with familial hypercholesterolemia. Human Genetics, 80: 1-5.

Yamakawa, K.; Yanagi, H.; Saku, K.; Sasaki, J.; Okafuji, T.; Shimakura, Y.; Kawai, K.; Tsuchiya, S.; Takada, K.; Naito, S.; Arakawa, K. y Hamaguchi, H. 1991. Family studies of the LDL receptor gene of relatively severe hereditary hypercholesterolemia associated with Achilles tendon xanthomas. Human Genetics, 86: 445-449.

Yamamoto, T.; Davis, C.; Brown, M.; Schneider, W.; Casey M.; Goldstein, J. y Russell, D. 1984. The human LDL receptor: a cysteine-rich protein with multiple *Alu* sequences in its mRNA. Cell, 39: 27-38.

Zee, R.; Schrader A.; Robinson, B.; Griffiths, L. y Morris, B. 1995. Association of *HincII* RFLP of low density lipoprotein receptor gene with obesity in essential hypertensives. Clinical Genetics, 47(3): 118-121.

Zeng, Y.; Zhang, L.; Mingming, M.; Dong, Y.; Zhongyang, H.; Baoqiong, L.; Jian, S.; Hongwei, X.; Zhi-ping, H. y Hongxing, W. 2010. Low density lipoprotein receptor gene C1773T polymorphism and cerebral hemorrhage in Changsha Hans correlation effects on plasma lipid levels. Chinese journal of nervious and mental diseases, 3: 145-148.

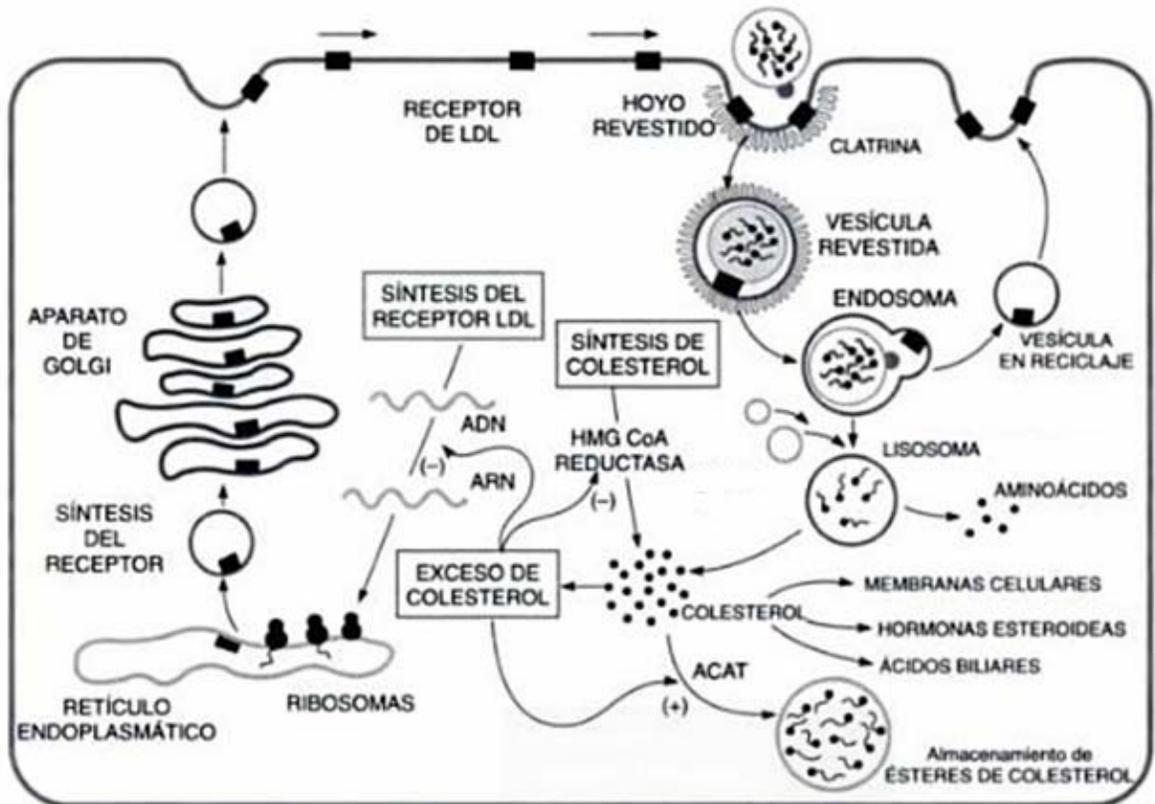
Zheng, G.; Colasanti, A.; Lu, X. y Olson, W. 2009. DNA Landscapes: a database for exploring the conformational features of DNA. Nucleic Acids Research, 38: 267-274.

Zhu, H.; Tucker, H.; Grear, K.; Simpson, J.; Manning, A.; Cupples, L. y Estus, S. 2007. A common polymorphism decreases low-density lipoprotein receptor exon 12 splicing efficiency and associates with increased cholesterol. Human Molecular Genetics, 16(14): 1765–1772.

ANEXOS

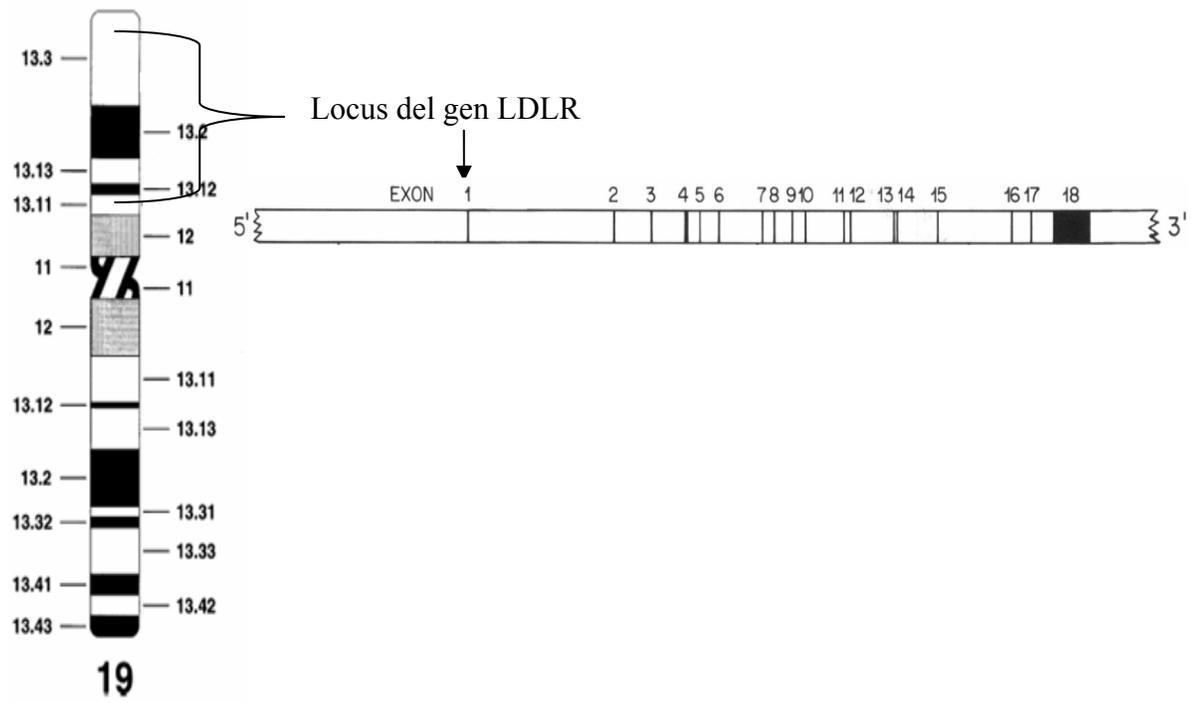
ANEXO 1

Representación esquemática del proceso de endocitosis de las partículas LDL mediada por el receptor LDLr. (tomado de Díaz y Fernández, 1996).



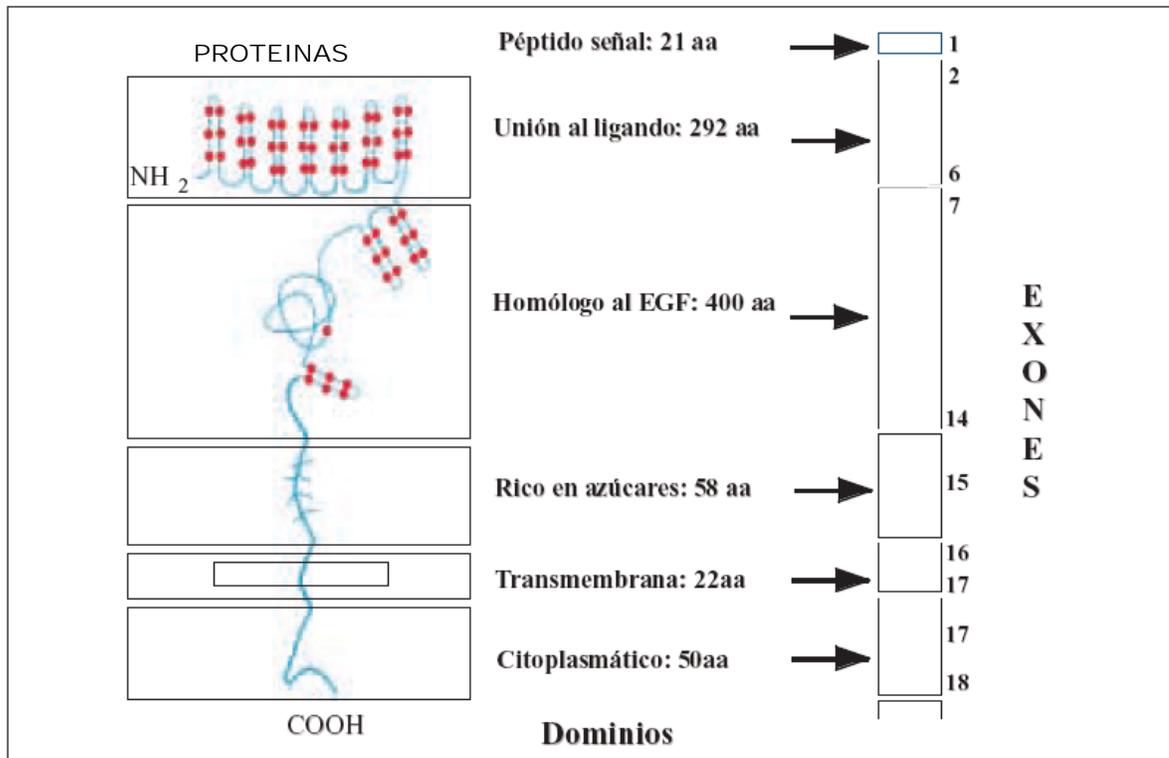
ANEXO 2

Localización del gen LDLR en el cromosoma 19 (tomado de Leitersdorf y cols. 1989; Couture y cols. 1999).



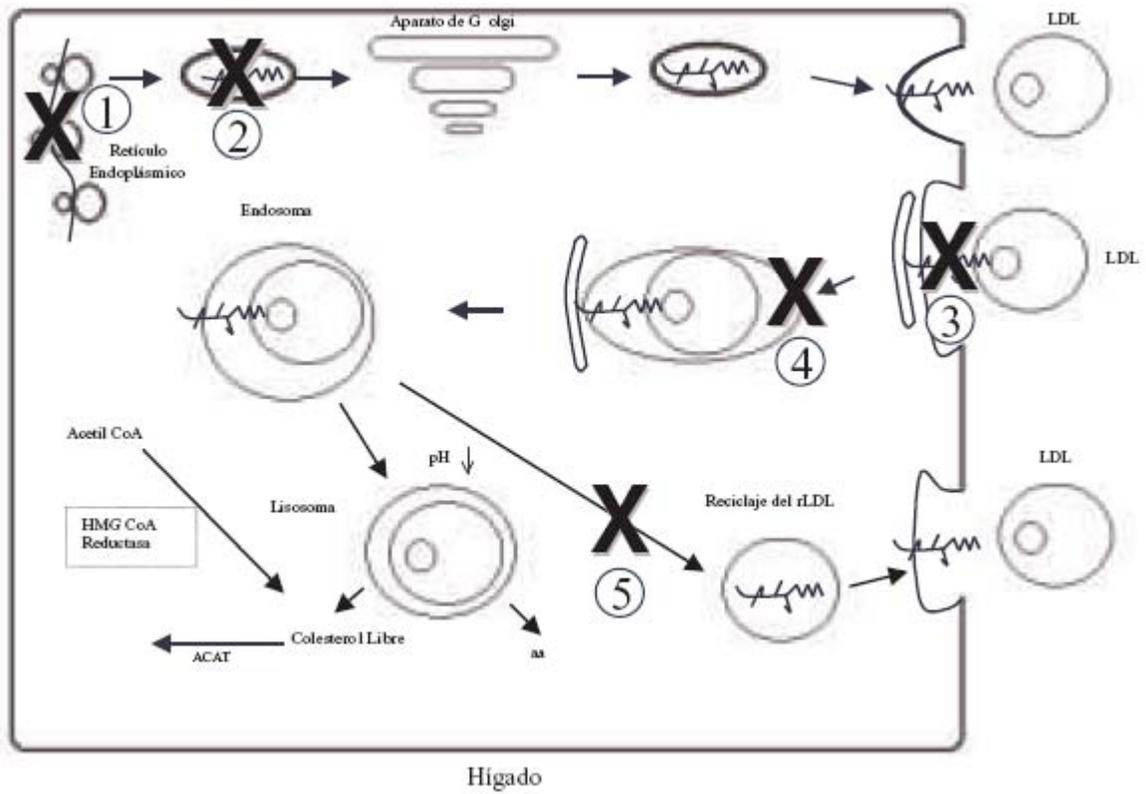
ANEXO 3

Dominios estructurales del gen LDLR (tomado de Pocoví y cols. 2002).



ANEXO 4

Clases de mutaciones funcionales a nivel del receptor LDLr (tomado de Pocoví y cols. 2002).



ANEXO 5

Frecuencias alélicas de 22 RFLPs ubicados en el locus del gen del LDLR listados en orden de 5'a 3' (tomado de Hobbs y cols. 1990).

<i>RsaI</i>	5' FR	3.2/1.8	75/25	American (n = 130) ^d
<i>StuI</i>	5' FR	20/12.5	86/14	American (n = 28)
<i>BclI</i>	5' FR	8.7/5.5	22/78	American (n = 18)
<i>SacI/KpnI</i>	5' FR	2.05/2	50/50	American (n = 10)
<i>ApaI</i>	5' FR	4.5/4.2	4/96	American (n = 40)
<i>PvuII</i>	5' FR	8.5/4.9	76/24	American (n = 90)
<i>BsmI</i>	5' FR	18/13	17/83	American (n = 123)
<i>ApaLI</i>	Intron 3	12.0/7.2	95/5	German (n = 72)
<i>TaqI</i>	Intron 4	1.7/0.6	67/33	Japanese (n = 67)
			87/13	American (n = 20)
<i>SphI</i>	Intron 6	3.7/3.2	41/59	American (n = 123)
<i>StuI</i>	Exon 8	17/15	6/94	South African (n = 60)
				American (n = 123)
				English (n = 154)
<i>HincII</i>	Exon 12	0.133/0.098	55/45	American (n = 10)
<i>AvaII (+ XbaI)</i>	Exon 13	1.9/1.7	57/43	American (n = 123)
<i>SpeI</i>	Intron 15	21/13	92/8	American (n = 123)
<i>ApaLI (+ BamHI)</i>	Intron 15	9.4/2.8	49/51	American (n = 123)
			48/52	English (n = 66)
<i>PvuII</i>	Intron 15	16.5/14	75/25	English (n = 147)
			76/24	American (n = 123)
			65/35	Afrikaner (n = 65)
			60/40	Italian (n = 112)
<i>MspI</i>	Exon 18	0.47/0.44	23/73	German (n = 91)
<i>NcoI</i>	Exon 18	13/3.4	36/64	South African (n = 52)
			28/72	American (n = 123)
			26/74	English (n = 117)
(dTA)n	Exon 18	0.106–0.114		American (n = 27)
<i>PstI</i>	3' FR	3.4/2.85	60/40	German (n = 35)
			55/45	American (n = 123)
<i>BstEII</i>	3' FR	33/22	75/25	European (n = 20)
<i>ApaLI (+ BamHI)</i>	3' FR	17/13	27/73	American (n = 123)

Polimorfismos Localización Sitio de Bandas (kb) Frecuencias Alélicas (%) Población

ANEXO 6

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

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.

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.

Firma del Voluntario	Firma del Investigador
Nombre: C.I. Lugar: Fecha:	Nombre: C.I. Lugar : Fecha:
Firma del Testigo	
Nombre: C.I. Lugar : Fecha:	

ANEXO 7

HISTORIA POBLACIONAL

Encuestador: _____ N° Ficha: _____

Lugar Evaluación: _____ Fecha Evaluación: ____/____/____

DATOS PERSONALES:

Nombres y Apellidos: _____

Sexo: Femenino Masculino Fecha de Nacimiento: ____/____/____ Edad: _____

Lugar de Nacimiento: _____

De la Madre: _____ Del Padre: _____

Abuela Materna: _____ Abuelo Materno: _____

Abuela Paterna: _____ Abuelo Paterno: _____

Estado Civil: Soltero Casado Concubinato Divorciado Viudo

Dirección Habit.: _____

_____ Teléfonos: _____

Nivel de Instrucción: Analfabeta Lee y Escribe

Primaria Completa Incompleta Estudiando

Media Completa Incompleta Estudiando

Técnica Media Completa Incompleta Estudiando

Técnica Superior Completa Incompleta Estudiando

Universitaria Completa Incompleta Estudiando

Profesión (Título): _____ Ocupación: _____

Ama de Casa Empleado Comerciante o Productor Obrero Especializado

Obrero No Especializado Trabajo Informal Desempleado

Otros : _____ Es Jefe de Familia: Sí No

HISTORIA CLÍNICA:

Enfermedad Cardiovascular Isquémica: No Sí Medicación: _____

Tiempo: _____ Antecedentes Fam.: Padre Madre Hermanos Familiar

Accidente Cerebro Vascular: No Sí Medicación: _____

Tiempo: _____ Antecedentes Fam.: Padre Madre Hermanos Familiar

Diabetes: No Sí Tipo: _____ Medicación: _____

Tiempo: _____ Antecedentes Fam.: Padre Madre Hermanos Familiar

Hipertensión Arterial: No Sí Medicación: _____

Tiempo: _____ Antecedentes Fam.: Padre Madre Hermanos Familiar

Hipercolesterolemia: No Sí Medicación: _____

Tiempo: _____ Antecedentes Fam.: Padre Madre Hermanos Familiar

Hipertrigliceridemia: No Sí Medicación: _____

Tiempo: _____ Antecedentes Fam.: Padre Madre Hermanos Familiar

Hiperinsulinemia: No Sí Medicación: _____

Tiempo: _____ Antecedentes Fam.: Padre Madre Hermanos Familiar

Anticonceptivos: No Sí Tipo: _____ Terapia de Reemplazo Hormonal: No Sí

N° de Hijos: _____ Abortos: No Sí Cuántos: _____ Edad última menstruación: _____

Hormonas: No Sí Estrógeno Progesterona Testosterona Tiroides Tiempo: _____

Enfermedades Inflamatorias Crónicas, Infecciones Odontológicas, Intervenciones Quirúrgicas,
Otros: _____

CONSUMO DE TABACO:

No Fuma Ex fumador Fumador

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

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

CONSUMO DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS:

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

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

Otras : _____ Cantidad: _____

ACTIVIDAD FÍSICA:

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

Manejo de Carga Pesada: Sí No Deportes: Sí No Tipo: _____

Frecuencia: Diario Semanal Esporádico Tiempo por sesión de ejercicio: _____

HÁBITOS NUTRICIONALES:

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

Nº Ficha: _____

Nombres y Apellidos: _____

DATOS SOCIO-ECONÓMICOS:

1. Profesión del Jefe de Familia:

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

2. Nivel de Instrucción de la Madre:

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

3. Fuente de Ingresos de la Familia:

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

4. Calidad de la Vivienda:

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

Clasificación: 1. _____ 2. _____ 3. _____ 4. _____ Total: _____ Estrato: _____

Nº Ficha: _____

Nombres y Apellidos: _____

DATOS ANTROPOMÉTRICOS:

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

EXÁMENES DE LABORATORIO:

Hemoglobina: _____
Hematocrito: _____
Glóbulos Rojos: _____
Glóbulos Blancos: _____
HCM: _____
CHCM: _____
VCM: _____
Plaquetas: _____
Glicemia: _____
Colesterol Total: _____
Triglicéridos: _____
Colesterol HDL: _____
Colesterol LDL: _____
Colesterol VLDL: _____

Índices Hematimétricos:

Riesgo Cardíaco:

Otros:

ANEXO 8

Secuencias de las bases nitrogenadas de los oligómeros empleados para amplificar por PCR los fragmentos que definen los polimorfismos *TaqI*, *HincII* y *AvaII* ubicados en el gen LDLR.

Sitios de restricción polimórficos	de Oligómeros (5' → 3') 1: Izquierdo; 2: Derecho	Tamaño del producto amplificado	Referencia
<i>TaqI</i> (intrón 4)	1: CTGTTTGGAAGGTGCTGGTTG 2: TGCCTGTAATCCGCGCTACT	185 pb	Oligómeros Diseñados
<i>HincII</i> (exón 12)	1: TTCCTTATCCACTTGTGTGTCTAG 2: CTTCGATCTCGTACGTAAGCCACAC	190 pb	Leitersdorf y Hobbs, 1988
<i>AvaII</i> (exón 13)	1: GTCATCTTCCTTGCTGCCTGTTTAG 2: GTTCCACAAGGAGGTTTCAAGGTT	228 pb	Ahn y cols. 1994

ANEXO 9

Tamaño de los fragmentos amplificados, sitios de reconocimiento de las enzimas de restricción y asignación de los alelos y genotipos, de acuerdo con la aparición de los patrones de bandas (tomado de la casa comercial New England Biolabs).

Sitios de restricción Polimórficos	Tamaño del fragmento amplificado	Sitio de reconocimiento de la enzima de restricción	Alelos según el corte		Genotipos según el patrón de bandas (pb) dado por el corte		
			+	-	Homocigoto +	Heterocigoto	Homocigoto -
<i>TaqI</i>	185 pb	5'... T [▼] CGA... 3' 3'... AGC [▲] T... 5'	G	A	137 + 48	185 + 137 + 48	185
<i>HincII</i>	190 pb	5'... GT [▼] YRAC... 3' 3'... CARYTG... 5'	T	C	98 + 57 + 35	133+98+57+35	133 + 57
<i>AvaII</i>	228 pb	5'... G [▼] GWCC... 3' 3'... CCWGG [▲] ... 5'	C	T	141 + 87	228 + 141 + 87	228

R = A o G; Y = C o T; W = A o T. Negritas = bandas de interés para reconocer los alelos.

ANEXO 10

Frecuencias alélicas del polimorfismo *TaqI* procedentes de varios países

Población	Número de individuos	Frecuencia (%)	Referencia
Europa			
Londres	60	8,00	Humphries y cols. 1993
Suiza	368	10,80	Miserez y cols. 1993
Alemania	184	33,70	Miserez y cols. 1993
España	61	8,20	Chaves y cols. 1996
África			
Sur África	60	3,60	Kotze y cols. 1989
Asia			
Japón	197	51,20	Yamakawa y cols. 1991
Corea	187	46,50	Chae y cols. 2001
América			
Minnesota	404	10,00	Haviland y cols. 1997
Brasil : Wai Wai	24	15,00	Mattevi y cols. 2000
Gaviao	30	15,00	
Zoró	28	16,00	
Suruí	21	17,00	
Xavante	28	25,00	

ANEXO 11

Frecuencias alélicas del sitio de restricción polimórfico *HincII* en diferentes poblaciones

Población	Número de individuos	de Frecuencia (%)	Referencia
Europa			
Londres	60	49,00	Humphries y cols. 1993
Suiza	368	56,90	Miserez y cols. 1993
Alemania	184	62,90	Miserez y cols. 1993
República Checa	37	50,00	Horinek y cols.1995
España	61	59,80	Chaves y cols. 1996
Asia			
Rusia asiática	118	75,65	Petrishchev y cols. 1992
Mongolia	505	76,53	Sambuugiin y cols. 1992
Corea	187	86,20	Chae y cols. 2001
Japón	310	16,90	Fu y cols. 2001
Changsha-China	140	16,80	Zeng y cols. 2010
Oceanía			
Australia	96	57,00	Zee y cols. 1995
América			
Minnesota	404	58,00	Haviland y cols. 1997
Alberta-Canadá	719	61,00	Boringh y cols. 1998
Brasil	130	45,00	Salazar y cols. 1999
Brasil : Xavante	28	54,00	Mattevi y cols. 2000
Gavião	30	65,00	
Wai Wai	24	75,00	
Zoró	28	77,00	
Suruí	21	90,00	
Brasil	100	60,00	Nakazone y cols. 2009

ANEXO 12

Frecuencias alélicas del sitio polimorfismo *AvaII* encontradas en diferentes poblaciones

Población	Número de individuos	Frecuencia (%)	Referencias
Europa			
Italia	128	38,70	Daga y cols. 1990
Noruega	44	48,00	Rodningen y cols. 1993
Londres	60	49,00	Humphries y cols. 1993
Suiza	368	43,00	Miserez y cols. 1993
Alemania	184	6,30	Miserez y cols. 1993
República Checa	37	39,00	Horinek y cols.1995
España	61	37,50	Chaves y cols. 1996
África			
Sur Africa	60	37,80	Kotze y cols. 1989 ^a
Israel	159	47,00	Berkman y cols. 1992
Asia			
Japón	197	15,00	Yamakawa y cols. 1991
Corea	187	24,00	Chae y cols. 2001
Han-China	113	23,00	Guo y cols. 2002
Shanghai-China	109	14,30	Liu y cols.2003
India	100	67,00	Ninsha y cols. 2010
América			
Valle de San Luis-Colorado	385	44,00	Ahn y cols. 1994
Minnesota	404	56,00	Haviland y cols. 1997
Brasil	130	45,00	Salazar y cols. 1999
Brasil : Suruí	21	36,00	Mattevi y cols. 2000
Zoró	28	41,00	
Gavião	30	47,00	
Wai Wai	24	58,00	
Xavante	28	73,00	
Brasil	100	43,00	Nakazone y cols. 2000

ANEXO 13

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

Genotipos	Valores		Valores		Ji-cuadrado (χ^2)
	Valores Observados relativos	esperados reativos (H-W)	Valores Observados absolutos	esperados absoutos (H-W)	
TaqI					
A/A	0,790	P ² 0,790	64	63,990	1,563 10 ⁻⁶
G/A	0,197	2pq 0,197	16	15,957	1,159 10 ⁻⁴
G/G	0,123	q ² 0,012	1	0,972	8,066 10 ⁻⁴
Total	1,000	1,000	81	80,912	9,220 10⁻⁴
HincII					
C/C	0,099	P ² 0,081	8	6,561	0,316
T/C	0,370	2pq 0,407	30	32,967	0,267
T/T	0,531	q ² 0,513	43	41,553	0,050
Total	1,000	1,000	81	81,081	0,633
AvaII					
C/C	0,383	P ² 0,366	31	29,646	0,062
T/C	0,444	2pq 0,443	36	35,883	3,90 10 ⁻⁴
T/T	0,173	q ² 0,156	14	12,636	0,147
Total	1,000	1,000	81	78,162	0,209

ANEXO 14

Hábitos alimenticios de la población del estado Sucre en estudio (Hernández, 1997).

Alimentos	Diario (%)	Interdiario (%)	1-3 veces por semana (%)	1-3 veces por mes (%)	Ocasional (%)	Nunca (%)
Leche completa	27,16	8,64	23,46	6,17	28,40	6,17
Leche descremada	4,94	2,46	4,94	4,94	45,68	37,04
Café con leche	34,58	7,40	12,35	4,94	16,05	24,69
Café solo	40,74	4,94	4,94	2,46	20,99	25,93
Carne de res	0,00	6,17	69,14	8,64	16,05	0,00
Carne de cerdo	0,00	1,24	19,75	35,80	39,51	3,70
Pollo	9,88	44,44	44,44	1,24	0,00	0,00
Pescado	7,40	23,46	46,91	9,88	11,11	1,24
Huevos	2,46	6,17	32,10	34,58	22,23	2,46
Queso amarillo	2,46	18,52	18,52	17,29	37,04	6,17
Queso blanco	3,70	20,99	32,10	23,46	19,75	0,00
Mantequilla	0,00	1,24	0,00	0,00	1,24	97,52
Margarina	49,39	11,11	9,89	7,40	19,75	2,46
Mayonesa	9,88	12,35	24,69	12,35	33,33	7,40
Aceite	64,19	16,05	13,58	1,24	4,94	0,00
Manteca	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
Vegetales cocidos	6,17	6,17	38,27	20,99	23,46	4,94
Ensaladas	8,64	11,11	51,86	7,40	19,75	1,24
Tuberculos ^o	3,70	7,40	35,80	33,33	19,75	0,00
Granos	7,40	4,94	30,86	32,10	23,46	1,24
Frutas	43,21	14,81	23,46	9,88	8,64	0,00
Cereales	8,64	2,46	8,64	11,11	53,10	16,05
Azúcar añadida	87,67	6,17	2,46	2,46	1,24	0,00
Postre	17,28	4,94	14,81	16,05	33,33	2,46
Sal	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

HOJA DE METADATOS

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

Título	SITIOS DE RESTRICCIÓN POLIMÓRFICOS <i>TaqI</i> , <i>HincII</i> Y <i>AvaII</i> UBICADOS EN EL GEN QUE CODIFICA PARA EL RECEPTOR DE LA LIPOPROTEINA DE BAJA DENSIDAD (LDLR), EN INDIVIDUOS DEL ESTADO SUCRE
---------------	---

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Campos M. Eudys del V.	CVLAC	18214701
	e-mail	eudisc@hotmail.com
	e-mail	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Gen LDLR
Polimorfismos
Obesidad
Lipoproteínas

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

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Se analizaron los sitios de restricción polimórficos *TaqI*, *HincII* y *AvaII* ubicados en el gen que codifica para el Receptor de las Lipoproteínas de Baja Densidad. El estudio quedó conformado por un total de 81 individuos, de los cuales el 53,09% (n=43) correspondía al sexo femenino y el 46,81% (n=38), masculino. Todos los individuos eran aparentemente sanos, nacidos en el estado Sucre, con padres y abuelos autóctonos del mismo lugar. Las muestras se analizaron mediante la técnica de PCR-RFLP. Se determinaron las frecuencias alélicas y genotípicas por contaje directo y se analizó el ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg, mediante la prueba de Ji-cuadrado (χ^2). Se compararon los promedios de los valores de glicemia, triglicéridos, colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, VLDL-colesterol; así como también los parámetros antropométricos índice de masa corporal e índice de cintura-cadera; clasificados según los genotipos de cada sitio polimórfico, aplicando la prueba ANOVA. Se observó que *TaqI* presentó una mayor frecuencia de la ausencia del sitio de corte (-), alelo A (89,00%), en comparación con la presencia del mismo (+), alelo G (11,00%), y mostró unas frecuencias genotípicas de A/A=79,01% (n=64), G/A=19,75% (n=16) y G/G=1,24% (n=1). Para *HincII* se encontró una frecuencia mayor del sitio de corte (+), alelo T (72,00%), en relación a la ausencia de dicho corte (-), alelo C (28,00%); con frecuencias genotípicas de T/T=53,08% (n=43), T/C=9,88% (n=8) y C/C=9,88% (n=8). Por su parte, *AvaII* mostró mayor proporción para la ausencia del sitio de restricción (-) o alelo T (61,00%), que para la presencia (+) del mismo, alelo C (39,00%); mostrando frecuencias genotípicas de C/T=44,44% (n=36), T/T=38,27% (n=31) y C/C=17,28% (n=14). La población estudiada se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg, en relación a cada uno de los sitios de restricción polimórficos analizados. No se encontró asociación de los parámetros bioquímicos y antropométricos con los genotipos de cada sistema, a excepción de los niveles de triglicéridos y VLDL-c, que presentaron diferencias significativas ($p<0,05$); según los genotipos de *AvaII*. Con respecto a la información recopilada en las encuestas, el 9,87% de los individuos presentó antecedentes familiares en relación de ciertas enfermedades crónicas no transmisibles, el 11,11% informaron ser fumadores y exfumadores. El 77,78% reportó ser consumidores de bebidas alcohólicas. El 35,00% de los individuos no practicaban actividad física, además presentaron un aumento en el consumo de grasas y carbohidratos, con disminución en el ingesta de proteínas.

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

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Vivenes de Lugo, Merlyn Carolina	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"/>
	CVL AC	8641870
	e-mail	merlynvivenes@hotmail.com
	e-mail	
Nusetti Perez, Sonia Ysabel	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input checked="" type="checkbox"/>
	CVL AC	11380086
	e-mail	snusetti@yahoo.com
	e-mail	
Millán González, Gilda Carmen	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input checked="" type="checkbox"/>
	CVL AC	4692369
	e-mail	Gildamgi@gmail.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):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis-CamposM.doc	Application/Word

Alcance:

Espacial: Nacional _____ (Opcional)

Temporal: Temporal _____ (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

Lic. en Bioanálisis _____

Nivel Asociado con el Trabajo: **Licenciado** _____

Área de Estudio: Bioanálisis

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

Universidad de Oriente/Núcleo de Sucre _____

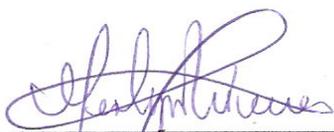
Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

Derechos:

Yo Eudys Campos 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



Eudys Campos
AUTOR 1



Merlyn Vivenes
ASESOR



Sonia Nusetti
JURADO 1



Gilda Millán
JURADO 2

POR LA COMISIÓN DE TESIS:

Por 

Elsa Salazar

