



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS ECONÓMICAS Y SOCIALES
ESCUELA DE ANTROPOLOGÍA

VEREDICTO

Quienes suscriben, integrantes del Jurado designado por el Consejo de Escuela de Antropología, en sesión del día 29-11-17, para examinar el Trabajo Final de la Bachiller **Diana Sierra, C.I N° 20.761.386**. Titulado: "**Frecuencia del polimorfismo rs9282541 del gen ABCA1 en comunidades de la Etnia Warao, su importancia en Antropología y en Salud Pública**", presentado como requisito final para optar al título de Antropóloga, hacen constar que el día 11/12/17, en la Sala de Sesiones del Consejo de la Escuela, siendo las 10:30 a.m., sometieron a discusión pública el mencionado trabajo, conforme disponen las Normas Vigentes, después de lo cual emitieron el siguiente veredicto: La investigación muestra una excelente revisión teórica y un cuidadoso análisis de los datos genotípicos y fenotípicos a cerca del polimorfismo rs9282541 y su variante R230 en la población warao. Se destaca la interpretación conjunta de nociones de la evolución, la genética de población y la salud pública como dimensiones de gran valor para la Antropología Física.

La evaluación ponderada según el artículo 28 de las Normas de Investigación y Trabajo final.

Nombre del Profesor	Trabajo Final Escrito (70%)	Presentación Oral (15%)	Defensa Pública (15%)	Final
PROF. DINORAH CASTRO	20	20	20	20
PROF. MONY VIDAL	20	20	20	20
PROF. ÁNGEL REYES	20	20	20	20
Calificación Final	20	20	20	
Calificación Ponderada	14	3	3	20

El jurado califica el trabajo con Veinte (20) puntos haciéndose acreedora de la Mención Honorífica

En la Escuela de Antropología, a los once día del mes de Diciembre de dos mil diecisiete.

PROF. MONY VIDAL
Principal



PROF. DINORAH CASTRO
Tutora-coordinadora

PROF. ÁNGEL REYES
Principal

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS ECONÓMICAS Y SOCIALES
ESCUELA DE ANTROPOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ANTROPOLOGÍA FÍSICA

**Frecuencia del polimorfismo rs9282541 del gen
ABCA1 en comunidades de la etnia warao, su
importancia en Antropología y en Salud Pública**

(Trabajo especial de grado como requisito para optar al título de Antropólogo)

Autor: Diana Sofía Sierra Lovera

Tutor: Dra. Dinorah Castro de Guerra

Caracas, Diciembre 2017

A mi mamá

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, por su amor, ayuda, consejos, apoyo y un entusiasmo igual o mayor al mío en cada etapa de mis estudios, por inculcarme el amor por las ciencias y la investigación, por ser el mejor modelo de ser humano que una persona pudiera desear. A mi hermana por hacer ameno el trayecto, y a mi papá por estar siempre dispuesto a escucharme.

A mi tutora, Dinorah Castro de Guerra, por su infinita paciencia, constancia, comprensión y apoyo para conmigo. Por permitirme hacer tan bonita investigación con ella. Por ser ejemplo de constancia, esfuerzo y dedicación en el área de la investigación antropológica, por ser un gran modelo a seguir como persona y profesional de la Antropología.

Al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), por financiar este proyecto y permitirme el uso de sus áreas de trabajo y estudio. A los investigadores y estudiantes del Laboratorio de Genética Humana del IVIC, por compartir sus conocimientos y brindarme su ayuda en todo momento, Sara, Viviana, Yanireth, Cristina, Vicky, Gilberto, Héctor, Luis José, y a los doctores I. Paradisi y A. Rodríguez-Larralde. A Jenny Nava, del Centro de Antropología del IVIC, por su ayuda y consejo ante mis dudas sobre el pueblo warao.

A la Universidad Central de Venezuela y la Escuela de Antropología, por darme la oportunidad para desarrollarme como antropólogo en sus espacios y con sus profesores. No podría haber escogido una mejor institución para mi formación

académica. A los profesores Ángel Reyes y Mony Vidal, porque, junto con la profesora Dinorah Castro, lograron enamorarme aún más de la Genética de Poblaciones Humanas.

A Emelyn, por contagiarme su amor, interés y curiosidad por las poblaciones indígenas del mundo, especialmente las venezolanas. A Daniel, Gabriel, Juan Pablo, Karen, Gracce, Abby, María Angela y Rosaly, quienes siempre han estado presentes, alentándome y ayudándome en lo que han podido durante la elaboración de este trabajo. Gracias a todos por ser mis amigos.

A Glisia, Iraidita, Leopoldo, Adriana, Claudia, Víctor, Iginia, y Emilio, por su amor y ayuda en todo momento; el tiempo que comparto con ustedes es invaluable, no sólo durante este proceso sino desde que tengo memoria. No habría encontrado una familia mejor de haber podido escogerla.

ÍNDICE GENERAL

	pp.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABLAS	viii
RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
OBJETIVO GENERAL	9
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
JUSTIFICACIÓN	10
1. SÍNTESIS TEÓRICA	12
1.1. Conceptos básicos de Genética de Poblaciones Humanas	12
1.2. El Genotipo Ahorrador	19
1.3. El gen <i>ABCA1</i> y su variante amerindia	22
1.4. Los warao y su estado de salud cardio-metabólico	27
2. CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	30
2.1. Los warao	30
2.1.1. Datos genéticos de la etnia warao	32
2.1.2. Estilo de vida de los warao	34
2.1.3. Consecuencias del abandono del aislamiento	36
3. SÍNTESIS METODOLÓGICA	40
3.1. Diseño de la investigación	40
3.2. Población y muestra	40
3.3. Análisis genético	43
3.4. Análisis bioquímico	44
3.5. Análisis estadístico	44
4. RESULTADOS	46
4.1. Descripción de la muestra y del trabajo de laboratorio	46

4.2. Resultados del estudio del polimorfismo rs9282541 en los warao: frecuencias genotípicas y alélicas en los diferentes caseríos y distancias genéticas.	47
4.2.1. Frecuencias genotípicas y alélicas de los caseríos warao.	47
4.2.2. Distancias genéticas (matriz pairwise Fst) entre los caseríos warao.	49
4.2.3. El conjunto warao	50
4.3. Distribución de frecuencias del polimorfismo rs9282541 en los warao y otros amerindios	51
4.3.1. Distancias genéticas entre warao y amerindios para el polimorfismo rs9282541	53
4.4. Clasificación fenotípica de los warao mediante valores del colesterol HDL y su asociación con los genotipos para el polimorfismo rs9282541.	57
4.4.1. El conjunto warao	57
4.5. Presencia del polimorfismo rs9282541 y su relación con niveles de HDL	60
5. DISCUSIÓN	64
5.1. Distribución del rs9282541 en los warao y otros grupos amerindios	64
5.2. Análisis para la caracterización fenotípica de los warao mediante el colesterol HDL y su relación con el rs9282541	74
6. CONCLUSIONES	79
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
ANEXOS	91

LISTA DE FIGURAS

Figura	pp.
1. Ubicación del gen <i>ABCA1</i> en el cromosoma 9, posición 31.1	22
2. Frecuencias del polimorfismo rs9282541 para el mundo	26
3. Ubicación actual de la población warao en la República Bolivariana de Venezuela	31
4. Ubicación de los asentamientos warao estudiados en la presente investigación	42
5. Representación gráfica en nubes de los genotipos posibles	47
6. Dendrograma de las 38 poblaciones amerindias en las que se identificó el polimorfismo rs9282541	55
7. Distribución de los niveles de HDL según sexo	59
8. Distribución de niveles de HDL en los individuos clasificados como portadores/no portadores del alelo G	61
9. Proporción de individuos en cada grupo de HDL según presencia de los alelos	63
10. PCR en tiempo real; fundamentos de la estrategia empleando sondas TaqMan. Actividad 5' exonucleasa de la Taq polimerasa	93
11. Gráfica de amplificación del producto de la PCRrt	94

LISTA DE TABLAS

Tabla	pp.
1. Frecuencias genotípicas y alélicas en los caseríos warao.	48
2. Matriz de distancias genéticas (Fst) entre los caseríos warao.	49
3. Frecuencias genotípicas y alélicas de la etnia warao.	50
4. Frecuencias alélicas y ubicación geográfica de las poblaciones amerindias en las que se ha identificado el polimorfismo rs9282541.	52
5. Matriz de distancias genéticas (Fst) entre warao y amerindios portadores del SNP rs9282541.	53
6. Clasificación de los warao según niveles de HDL y el sexo.	58
7. Distribución de los niveles de HDL según sexo.	59
8. Distribución de niveles de HDL según sexo y presencia del alelo G.	60
9. Proporción de individuos en cada grupo de HDL según su condición de ser portador o no del alelo de riesgo (G).	62

Universidad Central de Venezuela.
Facultad de Ciencias Económicas y Sociales.
Escuela de Antropología.
Departamento de Antropología Física.
Trabajo especial de grado para optar al título de Antropólogo.

Frecuencia del polimorfismo rs9282541 del gen *ABCA1* en comunidades de la etnia warao, su importancia en Antropología y en Salud Pública.

Autor: Diana S. Sierra L.

Tutor: Dra. Dinorah Castro.

Fecha: Diciembre, 2017.

RESUMEN

El gen *ABCA1* está encargado del 'transporte reverso del colesterol', proceso crucial para la síntesis del colesterol HDL y la prevención de la formación de placas ateromatosas. Una variante funcional de este gen, la R230C (rs9282541), es un marcador genético de origen amerindio cuya expresión fenotípica implica fallas en la síntesis de HDL y acumulación de grasa en diversos tejidos. Su frecuencia va del 2% al 33% en amerindios y sus descendientes, quienes actualmente padecen dislipidemias, síndrome metabólico y obesidad. Esto se ha relacionado, entre otros factores, con la presencia de la variante y con una alimentación alta en carbohidratos simples y grasas, ajena a sus tradiciones. Por esto, el objetivo de la presente investigación fue identificar la frecuencia del 230C en los warao del delta del Orinoco (Edo. Delta Amacuro, N=115), emplearla para establecer semejanzas con otros amerindios y evaluar su relación con los niveles de HDL. La frecuencia alélica obtenida fue del 13,05%. Los valores de distancia genética entre warao y el resto de las poblaciones, relacionados con información lingüística y cultural, permitieron establecer semejanzas con los cabecar y guaymi (Chibchas de Panamá) así como con los yanomami, satere-mawè, kuben kran keng y gorotire (norte del Amazonas); esto no descarta el probable origen proto-Chibcha de los warao. La frecuencia de 230C en warao puede ser producto de la prolongada práctica de la endogamia y consanguinidad que los caracteriza y a la acción de la deriva génica. Por otra parte, el 40,36% de la muestra presentó niveles muy bajos de HDL (33,3mg/dL), encontrándose relación entre dichos niveles y el portar el alelo 230C (alelo G). En conclusión, los warao presentan un estado de salud deteriorado en términos bioquímicos el cual puede encontrar su causa en la presencia del 230C junto con la adopción de un estilo de vida netamente sedentario y una alimentación poco saludable.

Palabras clave: ABCA1, rs9282541, HDL, warao, genotipo ahorrador.

INTRODUCCIÓN

Las prácticas culturales del ser humano han transformado drásticamente las condiciones ambientales que le rodean, lo cual, a manera de círculo vicioso, ha requerido de modificaciones en su comportamiento en cuanto al aprovechamiento del entorno y, de forma simultánea, esto ha estado acompañado de rápidos y sustanciales cambios genómicos frecuentemente asociados con selección positiva o selección direccional y adaptación. Un ejemplo de este fenómeno fue el desarrollo de la agricultura y la domesticación de los animales durante el período Neolítico, hace aproximadamente 10.000 AP (antes del presente), cuya consecuencia fue la construcción de un ambiente nuevo en el cual el *Homo sapiens* pudiera desenvolverse (Hünemeier et al., 2012).

Se ha propuesto que la constitución genética del ser humano actual surgió durante el período Paleolítico, donde la carne proveniente de la caza de herbívoros gregarios con muy poca grasa posiblemente conformaba el 50% de la dieta y el resto lo constituían frutas, vegetales de hoja, tubérculos, raíces, semillas y nueces. Estas poblaciones experimentaron períodos de escasez de recursos suficientes para ocasionarles una considerable pérdida de peso y amenazar la supervivencia de los individuos con poca grasa corporal; coincidentemente, la asimilación de una mayor cantidad de calorías en los períodos de abundancia y su almacén como grasa en el organismo de estos sujetos, puede haber sido un mecanismo de adaptación y supervivencia para los períodos de escasez (Doval, 2005).

En relación a esto, una teoría denominada el *Genotipo Ahorrador* (Neel, 1962), postula que existen ciertas variantes en nuestro genoma que tienen relación con el aumento de la eficiencia en el uso y almacén de energía en forma de grasa para los períodos de escasez, las cuales fueron seleccionadas de manera positiva durante el Paleolítico. En la actualidad, el conjunto de un ambiente y comportamiento obesogénicos, la transición nutricional ocasionada por la industrialización, factores culturales y políticas económicas donde la comida alta en carbohidratos y grasa es generalmente abundante y la de más fácil adquisición, hace que esas variantes genéticas asociadas con el almacenamiento de energía, puedan estar relacionadas con padecimientos como obesidad, dislipidemias, diabetes, síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular (Chacín et al., 2011; Hünemeier et al., 2012).

Resulta interesante cómo estas enfermedades de la industrialización y la occidentalización han sido observadas actualmente en grupos indígenas que hasta hace poco mantenían hábitos alimentarios tradicionales. Son grupos como los cazadores/recolectores de Australia y América, y agricultores como los pima en el norte de América y los indígenas de la isla Nauru en la Micronesia Ecuatorial, quienes a partir de la pérdida de sus costumbres ancestrales y la adopción de los hábitos propios de la industrialización se han visto afectados por estas enfermedades. De hecho, estudios realizados desde hace pocos años sugieren que la alta susceptibilidad de la población latinoamericana ante las enfermedades metabólicas de origen multifactorial, puede encontrar una de sus causas en su ascendencia amerindia. (Chacín et al., 2011; Valenzuela, 2011).

Hace un par de décadas se determinó la existencia en el genoma humano de un gen denominado *ABCA1*, cuyo producto o proteína juega un importante papel en la extracción del colesterol intracelular para la formación de la molécula de colesterol HDL (*high density lipoprotein*, o lipoproteína de alta densidad) comúnmente conocido como el “colesterol bueno”. Variantes de este gen han sido asociadas con diversas alteraciones en los niveles de lípidos en sangre (disminución o aumento), a la predisposición o presencia de diabetes, obesidad y a un riesgo alto al padecimiento de enfermedad cardiovascular en diversas poblaciones humanas alrededor del mundo (Acuña-Alonso et al., 2010; Dumitrescu et al., 2011; Hünemeier et al., 2012; Aguilar-Salinas et al., 2009; Flores-Dorantes et al., 2010; Aguilar-Salinas et al., 2011).

Una de ellas, definida por el polimorfismo rs9282541, se ha relacionado directamente con niveles bajos de colesterol HDL en sangre junto a la presencia de sobrepeso y Diabetes Mellitus tipo 2, y se ha observado en frecuencias de hasta un 33% en poblaciones de indígenas y sus descendientes mestizos del continente americano, la mayoría de ellas ubicadas en la zona central del mismo. De hecho, pareciera ser una variante exclusiva de los amerindios puesto que aún no ha sido identificada en poblaciones estudiadas de Europa, Asia o África (Acuña-Alonso et al., 2010; Hünemeier et al., 2012).

Si este polimorfismo afecta la síntesis de las HDL, es probable que hubiera sido de utilidad en los períodos de escasez de recursos, típicos del paleolítico, correspondiéndose de esta manera con la teoría de Neel. La expresión fenotípica de dicho polimorfismo tendría como consecuencia indirecta el aumento en el almacén de

energía en los adipocitos, ya que unos niveles bajos de HDL no podrían cumplir de forma eficiente con la extracción de colesterol y triglicéridos de las células. Evidentemente, estas mayores reservas energéticas serían beneficiosas en la medida en que aumentarían la posibilidad de supervivencia de un individuo ante períodos de hambrunas o escasez de recursos, y probablemente el incremento en la frecuencia alélica de dicho polimorfismo pudo deberse a procesos de selección positiva (Acuña-Alonso et al., 2010; Chacín et al., 2011; Valenzuela, 2011; Hünemeier et al., 2012).

América fue el último continente en ser habitado por el *Homo sapiens*. En menos de 30.000 AP estos nuevos migrantes tuvieron que adaptarse a una amplia gama de entornos que sus antepasados no habían presenciado antes. El proceso de transición de las sociedades nómadas y semi-nómadas a los asentamientos y la domesticación de plantas ocurrió en ciertas regiones como Mesoamérica y los Andes; pero hubo muchas sociedades que mantuvieron el sistema de subsistencia de cacería/recolección hasta el período de contacto con los europeos durante la conquista y colonización, algunas incluso hasta la actualidad. En este último grupo se inscriben los warao, una etnia indígena venezolana, quienes, hasta la llegada de los europeos, hace ya más de 500 años, aún mantenían actividades económicas tradicionales basadas en el autoconsumo y el trueque (Acuña-Alonso et al, 2010; Hünemeier et al., 2012; Wilbert y Ayala, 2007; Wilbert y Ayala, 2011).

Durante el proceso de conquista y colonización hubo un ingreso de poblaciones principalmente europeas en todo el continente americano, y en segundo lugar de africanos extraídos de su continente como esclavos. Esta llegada de

extranjeros a un territorio previamente habitado por poblaciones indígenas produjo inmediatas transformaciones demográficas, culturales e incluso genéticas de gran importancia. Dentro de esto, uno de los cambios más resaltantes que esta situación ocasionó en las comunidades warao fue en el sistema económico y la alimentación. Pasaron de una economía de recolección, pesca y cacería, a una economía agrícola, enfocada en la siembra de productos extranjeros (Siso Martínez, 1965; Wilbert y Ayala, 2007; Heinen, 2011).

En el presente, los warao no cuentan con los recursos para procurarse una alimentación saludable, lo que los lleva a consumir una gran cantidad de productos alimenticios manufacturados y de bajo costo, cuyo aporte nutricional no es el ideal (altos en carbohidratos simples y grasas, pero bajos en proteínas y fibra vegetal) y que pueden llegar incluso a desmejorar su estado de salud. En los warao se ha podido observar una tasa de obesidad de hasta el 75%, así como en numerosas comunidades de otras etnias indígenas (tanto venezolanas como extranjeras), y este fenómeno pudiera estar ocasionado en parte a estos cambios en su estilo de vida, pero también a la presencia de variantes genéticas específicas de su ascendencia amerindia relacionadas a procesos metabólicos de absorción y almacén de nutrientes, así como una interacción negativa de estas variantes con dicho cambio cultural (Wilbert y Ayala, 2007; Wilbert y Ayala, 2011; Nava, 2012).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La gran variabilidad humana que existe dentro y entre las poblaciones permite observar cómo los grupos humanos, según su ascendencia étnica, pueden ver alterado su estado de salud debido a la interacción entre variantes en su acervo genético que afectan ciertos procesos metabólicos, y la adopción de, por ejemplo, hábitos alimentarios poco saludables. Este es el caso de los polimorfismos relacionados con el Genotipo Ahorrador, cuyo estudio resulta de gran importancia para la Antropología Física porque pone de manifiesto esta variabilidad de las poblaciones humanas.

En Latinoamérica, hace pocos años se llevó a cabo un estudio conocido por el nombre de CARMELA (del inglés *Cardiovascular Risk Factor Multiple Evaluation in Latin America*), el cual evaluó la población general de 7 ciudades diferentes; entre ellas, Barquisimeto, en Venezuela. Los resultados mostraron una alta prevalencia de hipertensión arterial, dislipidemia, hipercolesterolemia y obesidad, y concluyen que 1 de cada 7 personas en las poblaciones evaluadas se halla en riesgo significativo de sufrir un evento cardiovascular (Pramparo et al., 2011).

El Ministerio del Poder Popular para la Salud de Venezuela (2014) reportó en su *Anuario de Mortalidad* que las enfermedades del corazón representaron la causa de muerte del 20,58% (30.467 individuos) de los fallecidos en el país para el año 2012. En relación a esto, M. Marulanda (2014), presidenta de la Sociedad Venezolana de Medicina Interna, indica que las enfermedades cardiovasculares y metabólicas representan un grave problema de salud pública en el país, que son la principal causa

de muerte prematura y de discapacidad, y que se ha registrado como más frecuente una dislipidemia mixta que reúne aumento en niveles de Triglicéridos, aumento leve en niveles de colesterol LDL (del inglés *low density lipoprotein*), y descenso en niveles de colesterol HDL (del inglés *high density lipoprotein*). Así mismo, menciona que el detonante para la expresión de fenotipos de obesidad y síndrome metabólico es un estilo de vida con hábitos alimentarios poco saludables y poca actividad física.

Específicamente, la relación entre alteraciones en los niveles de colesterol en sangre y la presencia del polimorfismo rs9282541, que pareciera ser un marcador exclusivo de grupos amerindios, pudiera estar estrechamente vinculada a los cambios en el estilo de vida y las costumbres alimentarias de las poblaciones amerindias, lo cual predispone a estos individuos a padecer diversas enfermedades, especialmente las de origen cardiovascular y endocrino-metabólico (Aguilar-Salinas et al., 2009; Flores-Dorantes et al., 2010; Acuña-Alonso et al., 2010; Aguilar-Salinas et al., 2011; Hünemeier et al., 2012).

A pesar de esto, hasta los momentos no se ha realizado estudio alguno sobre el gen *ABCA1* ni en población mestiza ni en población indígena dentro del país. Y, por ejemplo, la información relacionada a dislipidemias y sus posibles causas (sean genéticas, o de otra índole) en la población warao es escasa, inclusive teniendo en cuenta que no sólo es uno de los grupos indígenas más numerosos del país, sino que también es uno de los más vulnerables.

Un aspecto a resaltar sobre las investigaciones en el ámbito de la Antropología realizadas con esta etnia es la evidente dificultad para establecer un consenso respecto a su origen. Existe un constante debate al respecto, ya que diversas investigaciones han aportado datos que parecieran vincularlos en términos lingüísticos a grupos proto-Chibcha (ubicados principalmente en Costa Rica, Panamá y Colombia), junto con los barí y yanomami; mientras que otras presentan datos que por lo general les diferencian en su acervo genético de muchas de las poblaciones indígenas de la región (Heinen, 2011; Nava, 2012).

En relación a esto, es pertinente señalar que en poblaciones guaymi y cabecar (agricultores de filiación lingüística proto-Chibcha) ubicadas en Costa Rica y Panamá, que han sido estudiadas recientemente, se observaron frecuencias de valor intermedio para el polimorfismo rs9282541, del 15% y 10% respectivamente. Así mismo, para la población yanomami estudiada (cazadores-recolectores de filiación lingüística proto-Chibcha o independiente), ubicada en Brasil, se observó una frecuencia del 12% del polimorfismo (Hünemeier et al., 2012).

De manera que la importancia de la identificación de esta variante amerindia en los warao no radica únicamente en esclarecer un poco más su pasado tan polémico o el establecer posibles vínculos genéticos con otros grupos indígenas, si no que pudiera aportar información vital para el diagnóstico de una predisposición genética al padecimiento de dislipidemias, una de las diversas patologías que actualmente afectan tanto a la población venezolana como al resto del mundo, lo que además de

ocasionar una desmejora en el estado de salud de los individuos, también incrementa el riesgo de muerte prematura a causa de estas patologías cardiovasculares.

Debido a esto, se propuso la caracterización genética de la población warao mediante la determinación de la frecuencia alélica del polimorfismo rs9282541 del gen *ABCA1*, así como su relación con los valores de colesterol reportados para este grupo.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia alélica del polimorfismo rs9282541 del gen *ABCA1*, la importancia de su presencia como marcador amerindio para la caracterización genética poblacional, y su relación con los valores de colesterol entre los warao ubicados en el Municipio Tucupita del Estado Delta Amacuro.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar la frecuencia alélica del polimorfismo rs9282541 en el ADN de integrantes de los caseríos Horqueta, Yakariyene, Caigual, Volcán, Janakosebe y Güires, pertenecientes a la etnia warao.
- Comparar las frecuencias alélicas del polimorfismo rs9282541 entre estas comunidades warao y con las de otras poblaciones indígenas del continente americano para establecer afinidades genéticas.

- Establecer la relación entre la frecuencia alélica de rs9282541 en la población de estudio con los valores reportados del colesterol HDL.

JUSTIFICACIÓN

Determinar la frecuencia del polimorfismo rs9282541 permitirá caracterizar genéticamente a estas seis comunidades warao del Estado Delta Amacuro, y comparar su frecuencia con diversos grupos amerindios no venezolanos en los que se ha identificado el mismo, lo que sumará información útil a la discusión sobre su origen genético. Además, estos datos son de gran interés, actualmente no existen a nivel nacional, tanto en población mestiza como en población indígena.

La frecuencia de este polimorfismo, asociado directamente con una alteración en los niveles de colesterol HDL, permitirá establecer la base genética relacionada al gen *ABCA1* de posible predisposición genética de estas comunidades al padecimiento de diversas enfermedades metabólicas de riesgo.

Así mismo, los datos producto de esta investigación podrán ser empleados en estudios posteriores con la etnia warao, en conjunto con la evaluación de otras variables de interés como el estado nutricional antropométrico, los hábitos y costumbres alimentarias, lo que permitirá determinar el grado de asociación o influencia que tiene este polimorfismo para el desarrollo de diferentes enfermedades de riesgo que actualmente pueden afectar de manera significativa a las etnias indígenas venezolanas.

Finalmente, el desarrollo de esta investigación dentro del país sentará un precedente para el estudio y empleo de este y otros polimorfismos en futuras investigaciones para el diagnóstico del estado de salud y estilo de vida de la población venezolana; lo cual, al recolectar una buena base de datos en esta temática, permitirá la posterior planificación de diversas políticas en salud pública que conduzcan a una mejora en el bienestar de las poblaciones de riesgo y en riesgo.

1. SÍNTESIS TEÓRICA

1.1. Conceptos básicos de Genética de Poblaciones Humanas

Desde la aparición de la propuesta teórica de Charles Darwin en 1859 sobre la selección natural de las especies, han surgido nuevas denominaciones en esta área de investigación y desde el punto de vista de la genética. **Evolución** es el cambio acumulativo e irreversible de las proporciones de las diferentes variantes de los genes (los alelos) en los grupos de individuos, y uno de sus rasgos más importantes es la consideración de *la población* como su unidad de estudio. Es pertinente señalar que la acumulación de estos cambios ocurre como un proceso lento que no puede ser observado mediante el estudio de un grupo durante unos pocos años, sólo pueden ser percibidos con el transcurso de muchas generaciones. De manera que el estudio micro-evolutivo describe la estructura genética de las poblaciones mediante el cálculo de frecuencias genotípicas, fenotípicas y alélicas (Dobzhansky et al., 1980; Griffiths et al, 2008).

En relación a esto, se toma la definición de Dobzhansky et al. (1980) de **población**, quien la define como un grupo de individuos que se cruzan entre sí formando una comunidad de intercambio genético denominada “población mendeliana”; esta definición también estará sujeta a la convivencia de sus integrantes en un espacio y tiempo determinados. Además, tal grupo puede ser caracterizado de acuerdo a su **estructura genética**, esto es la frecuencia en que se presentan los alelos de diferentes genes y sus combinaciones (genotipos) en el conjunto de individuos;

esta noción va de la mano con la de **acervo genético** (o reservorio génico), siendo este el conglomerado de todos los alelos de todos los genes de los individuos que constituyan la población (Puertas Gallego, 1999; Dobzhansky et al, 1980; Cabrero y Camacho, 2002; Solari, 2004; Griffiths et al, 2008).

Numerosos estudios han demostrado la cualidad altamente variable del genoma. Esto, la **variabilidad genética**, viene siendo la diversidad de estas frecuencias alélicas y genotípicas entre un grupo de poblaciones de la misma especie. A mayor variabilidad, mejor es la esperanza de adaptación, posibilidad de reproducción y supervivencia de una especie. Estas nociones se manejan a nivel poblacional; sin embargo, la combinación de los diferentes alelos de los genes en un individuo, la interacción entre ellos y con el medio ambiente, será lo que defina al fenotipo que será expresado, su **expresión génica** (Puertas Gallego, 1999; Dobzhansky et al., 2000; Griffiths et al., 2008).

Con el propósito de evaluar los procesos evolutivos en grupos de individuos surge la **genética de poblaciones**, rama de la biología y la genética que aporta los principios teóricos para el correcto estudio de esta área. Desarrollando diversas herramientas matemáticas, esta disciplina ha proporcionado instrumentos que permiten evaluar la estructura genética de un grupo, los cambios en su composición a lo largo del tiempo, predecir el comportamiento de los genes y exponer los procesos que dan explicación a estos fenómenos (Cabrero y Camacho, 2002; Curtis y Schnek, 2006). Al respecto, la genética de poblaciones distingue cuatro mecanismos

principales como motores de cambio en las poblaciones para que ocurra el proceso de evolución.

El primero es la **selección natural**, cuyo principal supuesto es que en una población pueden existir ciertas características hereditarias que otorgan alguna ventaja adaptativa, mediante mayor supervivencia y capacidad de reproducción, ante los cambios ambientales (Dobzhansky et al, 1980; Cabrero y Camacho, 2002; Aponte, 2008).

El segundo mecanismo son las **mutaciones**, errores azarosos que ocurren durante el proceso de replicación, transmisión y almacén de la información genética. Son la fuente primaria de variabilidad dentro de las poblaciones. Las mutaciones pueden ser *génicas* (puntuales), afectando sólo a uno o varios nucleótidos de un gen, y *cromosómicas*, afectando a la cantidad de cromosomas, la cantidad de genes dentro de un cromosoma o a la organización de los genes dentro de un cromosoma. Así mismo, estos cambios pueden ocurrir una sola vez, mutaciones “no recurrentes” como las cromosómicas, o pueden darse con cierta frecuencia en una población determinada, mutaciones “recurrentes” como las génicas (Dobzhansky et al, 1980; Cabrero y Camacho, 2002; Solari, 2004; Aponte, 2008).

La **deriva génica** viene a ser el cambio, producto del azar, en la composición de la estructura genética de una población; por ejemplo, la pérdida de un alelo determinado bien sea porque su único portador no pudiera aparearse o muriera antes de dejar descendientes, o debido a la simple fluctuación azarosa de los alelos en la

recombinación meiótica de los gametos. Hay que destacar que la deriva génica ejerce su mayor influencia en poblaciones pequeñas o fragmentadas (Dobzhansky et al, 1980; Cabrero y Camacho, 2002; Aponte, 2008).

Existen dos situaciones que demuestran su importancia como mecanismo evolutivo: el *efecto fundador* y el *cuello de botella*. El primero hace referencia al fenómeno mediante el cual una parte pequeña de la población se separa del resto, convirtiéndose en una nueva población que puede ser genéticamente representativa de la original o no, con lo cual un alelo poco común podría perderse para siempre o elevar su frecuencia. El cuello de botella, por otro lado, da nombre a la reducción drástica en el número de integrantes de una población debido a un acontecimiento que no guarda relación con los procesos de selección natural; con esto podrían diezmarse o desaparecer tanto alelos poco frecuentes como los más representados (Curtis y Schnek, 2006).

Finalmente, el **flujo génico** representa el intercambio de genes entre poblaciones a consecuencia de las migraciones, lo cual estará condicionado por factores como la distancia entre una y otra, y el mayor o menor aislamiento en que se encuentren. Se puede esperar que grupos contiguos posean una conformación genética más similar que los que se encuentren más alejados geográficamente (Dobzhansky et al, 1980; Cabrero y Camacho, 2002; Aponte, 2008).

Estos cuatro mecanismos interactúan entre sí sobre el acervo genético de una población para, con el transcurso del tiempo, degenerar en evolución; sin embargo,

para los estudios en poblaciones humanas, hay que tomar en consideración a los **mecanismos socio-culturales** como un nuevo factor de evolución en el tiempo y de diferenciación en el espacio.

El proceso de elección de pareja en las poblaciones humanas no ocurre de forma aleatoria por la existencia de tendencias selectivas de índole socio-cultural, que hacen que la *panmixia* (la reproducción aleatoria de los individuos de una especie) sea excepcional en la mayoría de los grupos humanos. La acción e interacción de factores económicos, políticos y socio-culturales (exclusivos del humano y derivados de la cultura) son entonces los que, en conjunto con los biológicos y ecológicos, condicionarán la reproducción en las poblaciones humanas (Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981).

Entonces, desde el punto de vista poblacional, lo que incide de manera directa en la aparición (o no) de cambios en la estructura genética de las poblaciones humanas son ciertas características como el tamaño de la población, el aislamiento (bien sea geográfico o socio-cultural) y las migraciones existentes; así como las costumbres matrimoniales, endogamia-exogamia y la consanguinidad producto de una fuerte endogamia (Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981; Puertas Gallego, 1999; Dobzhansky et al, 1980; Griffiths et al, 2008).

Se entiende que, si la Antropología Biológica se encarga del estudio multidisciplinario de la biodiversidad humana, para lo cual proporciona explicaciones a los cambios biológicos y sus consecuencias tanto en tiempo como en espacio, la

labor de la **Genética de Poblaciones Humanas**, como puente entre la Antropología y la Genética, será estudiar, a través de las herramientas y métodos de la biología molecular, el origen y distribución genética de las poblaciones humanas actuales. Esta disciplina logra su cometido mediante la caracterización de los grupos humanos de acuerdo a la distribución de polimorfismos (variabilidad genética) al interior de cada población, la comparación de estas frecuencias con las de otros grupos, y el dilucidar su relación con los diversos factores (biológicos, ambientales y socio-culturales) que afecten a la muestra de estudio. Para iniciar una investigación de este tipo, se debe establecer la delimitación del grupo a estudiar considerando las características antes mencionadas (Cavalli-Sforza y Bodmer, 1981; Curtis y Schnek, 2006; Eguiarte et al, 2013).

Una de las herramientas diseñadas para el estudio de los cambios en la estructura genética de una población dada es **la ecuación del equilibrio Hardy-Weinberg**. El matemático G. Hardy y el médico W. Weinberg, en 1908, demostraron que en una población ideal donde no ocurran mutaciones, no haya flujo génico, el apareamiento sea al azar, que sea de gran tamaño y donde todos los individuos sean igualmente viables y fecundos, las frecuencias de los alelos que compongan el reservorio genético de dicha población no cambiarán de una generación a otra; la estructura genética de esta población, entonces, estará en un estado de equilibrio (Cabrerero y Camacho, 2002; Curtis y Schnek, 2006).

Pareciera difícil el que una población real cumpla con las condiciones antes mencionadas, y, por consiguiente, la existencia de una que se encuentre en equilibrio.

Sin embargo, y en vista de que las frecuencias en los alelos de un conjunto de individuos se encuentran en constante cambio, el propósito de emplear la *ecuación Hardy-Weinberg* es detectar este cambio por pequeño que sea, determinar su magnitud y dirección, así como describir las fuerzas que lo ocasionan (Cabrero y Camacho, 2002; Curtis y Schnek, 2006).

Previamente se mencionó que las mutaciones génicas son cambios puntuales en un gen, de uno o varios de sus nucleótidos, que pueden alterar la expresión normal del mismo. Ellas son las principales responsables de la variabilidad genética, ya que componen la multiplicidad de variantes o alelos que puede tener un gen.

Ahora, la existencia de estas variantes genéticas en un locus designado y el incremento en su frecuencia de aparición permiten el desarrollo del concepto de **polimorfismo**. Dobzhansky et al (1980) explica que se denomina polimorfismo a la existencia simultánea de al menos dos (2) alelos para un gen, donde el alelo menos frecuente se presente dentro de una población en una frecuencia mayor o igual al 1%.

Existen varios tipos de polimorfismo, los que afectan regiones codificantes del genoma se denominan *polimorfismo génico*, mientras que los que afectan regiones no codificantes se denominan *polimorfismo genético*. En ambos casos la mutación puede consistir en una variación de un solo par de bases de la secuencia de ADN; para este tipo de cambio se emplea la denominación de **polimorfismo de un solo nucleótido** (del inglés *Single Nucleotid Polymorfism*) o *SNP* (Herráez-Sánchez, 2012).

Los polimorfismos varían de acuerdo a la población; en todas se estudian los mismos genes, pero la diferencia se obtendrá al observar las variaciones y frecuencias de los alelos de estos genes en cada grupo poblacional de manera independiente. En los estudios con humanos, los polimorfismos permiten estimar mestizaje, variabilidad inter/intra-poblacional y distancias genéticas, ya que tienden a conformarse como característicos de una población específica.

1.2. El Genotipo Ahorrador

Se conoce que existen diferencias inter e intra-poblacionales, y que éstas se deben a la variabilidad que aporta a las poblaciones humanas la constitución genética de cada uno de los individuos que las conforman. Estas diferencias, en conjunto con un medio ambiente y unas costumbres determinadas, son capaces de alterar diversos ámbitos en la fisiología del ser humano, por ejemplo, los mecanismos de procesamiento y almacén de los nutrientes que ingerimos al consumir alimentos (Panduro y Vázquez, 2001).

En este orden de ideas se inscribe la teoría del **Genotipo Ahorrador**. Esta hipótesis, propuesta por J. Neel en 1962, aborda la idea de que la constitución genética humana actual surgió durante el Paleolítico, período en el cual un 50% de la dieta de los grupos homínidos provenía de la proteína animal, mientras que el otro 50% provenía de frutas, vegetales de hoja, tubérculos, raíces, semillas y nueces.

La teoría considera que dichos individuos pudieron experimentar ciertas dificultades para procurarse alimentos, las cuales pudieron ser ocasionadas por la variación estacional. Dichos períodos de escasez podrían haber sido suficientes para producirles una pérdida de peso significativa y amenazar la vida de los individuos con poca reserva de energía en forma de adipocitos. Coincidentemente, ciertos antepasados del *Homo sapiens* actual contaban con diversos mecanismos metabólicos consolidados en sus genes a través de miles de años (mediante azar y selección natural), que les permitían asimilar una cantidad mayor de calorías a partir de su ingesta alimentaria durante los períodos de abundancia de recursos; mediante tales mecanismos, este exceso de nutrientes era almacenado en forma de grasa la cual beneficiaría a su poseedor con reservas energéticas que su organismo emplearía de ser necesario durante los períodos de escasez. A continuación, se describen brevemente dos de los ejemplos mejor sustentados que ilustran esta propuesta, los mecanismos de la insulino-resistencia y la leptino resistencia (Neel, 1962; Doval, 2005; Valenzuela, 2011).

La insulina es la hormona hipoglicemiante; su acción primaria es reducir la concentración de glucosa en sangre (glicemia), por lo que promueve su transporte hacia el interior de las células del tejido adiposo (adipocitos); esta glucosa que ingresa a los adipocitos se convierte en grasa que será almacenada. Entonces, una consecuencia secundaria de la acción de la insulina es aumentar la biosíntesis de grasa (ácidos grasos y triglicéridos) en el tejido adiposo, además de evitar el consumo de la misma. El mecanismo de la insulino-resistencia que conlleva a una producción

de insulina en demasía (hiperinsulinismo), estimulará la actividad de síntesis del tejido adiposo, la que finalmente se expresará en una acumulación de triglicéridos en los adipocitos a manera de un reservorio energético que resultaría beneficioso de ser empleado en períodos de hambruna o escasez (Nelson, 2007).

Por otro lado, la leptina es una molécula secretada por el tejido adiposo blanco y se conoce que actúa en el sistema nervioso como respuesta ante la alimentación para suprimir el apetito. En los humanos con grandes cantidades de tejido adiposo se produce una resistencia a la leptina, esto conlleva a la pérdida de sensibilidad ante su función, promoviendo un incremento en la ingesta de nutrientes y, consecuentemente, un mayor almacén de energía en forma de grasas (Almanza-Pérez et al., 2008).

Efectivamente, ambos procesos pudieron resultar beneficiosos ante el estilo de vida del cazador-recolector del Paleolítico, y probablemente fueron seleccionados positivamente ya que permitían este almacén de energía en forma de grasa, la cual resultaría de mucha utilidad ante un período de escasez de alimentos.

Sin embargo, el período Paleolítico finalizó hace unos 10.000 años, y el sistema de subsistencia de cazadores-recolectores, junto con un estilo de vida nómada, fue paulatinamente substituido por el asentamiento de las poblaciones y la domesticación de plantas y animales. No solo entonces ocurrieron cambios significativos en los hábitos alimentarios de los grupos humanos, también la Revolución Industrial acaecida hace unos 200 años implicó cambios de gran magnitud en la población mundial. El genotipo ahorrador, que antes representaba una

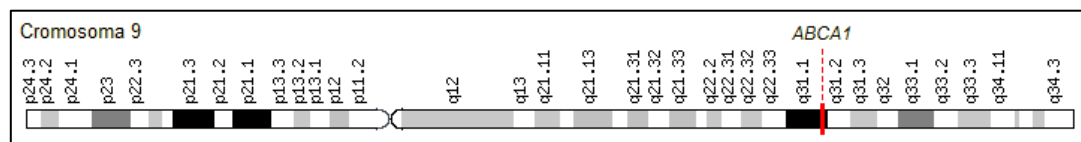
ventaja, actualmente puede explicar, junto a otros factores como la sobrealimentación y la disminución del ejercicio físico, la presencia de diversas enfermedades que afectan al metabolismo.

Recientemente se plantea una explicación similar con el gen *ABCA1* y su rol en el proceso del metabolismo de colesterol.

1.3. El gen *ABCA1* y su variante amerindia

Dentro de la constitución genética del *Homo sapiens* se encuentra el gen *ABCA1*. Su nombre oficial es *ATP-binding cassette, sub familia A, miembro 1*, y su nomenclatura es *ABCA1*. Está localizado en el brazo largo del cromosoma 9 en la posición 31.1, específicamente desde el nucleótido 104.781.001 hasta el 104.928.245, y la nomenclatura para su ubicación es *9q31.1* (figura 1). Forma parte de la familia ATP-binding cassette, la cual está implicada en la síntesis de proteínas que permiten el paso de moléculas a través de la membrana celular (Brunham et al., 2006; Albrecht y Viturro, 2007; Villarreal-Molina, 2008).

Figura 1. Ubicación del gen *ABCA1* en el cromosoma 9, posición 31.1. (tomado de GeneCards: The Human Gene Database, 2017 [modificado para la investigación])



La proteína *ABCA1* es producida en numerosos tejidos, pero se consigue en grandes cantidades en el hígado y en ciertas células del sistema inmune llamadas

macrófagos. Su presencia en la membrana celular de estos tejidos permite el movimiento de grasas como el colesterol y los fosfolípidos a través de la membrana hacia el exterior de la célula; es por esto que se le ha denominado “el portero del colesterol” (Brunham et al., 2006; Albrecht y Viturro, 2007; Villarreal-Molina, 2008).

Una vez en el líquido extracelular, el colesterol y los fosfolípidos se combinan con una proteína denominada *apolipoproteína A-I* (apoA-I) para la conformación del colesterol HDL. Esta molécula, mediante un proceso conocido como *transporte reverso del colesterol*, traslada colesterol y fosfolípidos a través del torrente sanguíneo desde las células periféricas de los tejidos del cuerpo hasta el hígado; una vez allí, ambas sustancias son redistribuidas a otros tejidos o removidas del cuerpo. El colesterol HDL es conocido comúnmente como “colesterol bueno”, por medio del mecanismo descrito anteriormente impide la formación de depósitos de colesterol, potencialmente problemáticos, en diversos tejidos como las arterias (la placa de ateroma), reduciendo así la posibilidad de desarrollo de ciertas enfermedades cardiovasculares (Brunham et al., 2006; Sánchez de Medina, 2000; Oram y Lawn, 2001; Albrecht y Viturro, 2007).

El gen *ABCA1* es altamente polimórfico. La mayoría de sus variantes identificadas están conformadas por cambios en un solo nucleótido de la secuencia que codifica para la síntesis de la proteína *ABCA1*. Una de las más resaltantes es la *R219K* (Frikke-Schmidt et al, 2004), identificada en diversas poblaciones africanas, europeas y asiáticas; a esta variante se la relaciona directamente con niveles altos de

colesterol HDL junto a una disminución del riesgo a padecer diabetes mellitus tipo 2, enfermedad coronaria (aterosclerosis) y síndrome metabólico (Corella et al., 2014; Damaskos et al., 2014).

Sin embargo, existen otras variantes que se han identificado como causantes de fallas en el producto del *ABCA1*. La principal de estas fallas es una inactividad en el proceso de liberación del colesterol y los fosfolípidos de las células, lo que ocasiona un descenso en la cantidad disponible de estas sustancias, indispensables para conformar la molécula de HDL. Como resultado, los niveles de HDL en sangre serán bajos, incrementando el riesgo del individuo a padecer patologías de los sistemas metabólico y cardiovascular. Entre las variantes del *ABCA1* relacionadas con la ausencia de HDL se consiguen la rs2853574, rs2853578, rs28937314, rs28937313 y rs137854498; entre las relacionadas con deficiencia de HDL se encuentran la rs145183203, rs9282541 y rs28933692 (Marcil et al., 1999; Rust et al., 1999; Sánchez de Medina, 2000; Wang et al., 2000; Clee et al., 2001; Oram y Lawn, 2001; Wang et al., 2001; Villarreal-Molina, 2008).

Una de las mutaciones de este gen se ha denominado rs9282541, surgió hace unos 8.000 años en el continente americano y se hizo polimórfica posiblemente a consecuencia de una selección positiva gracias a las condiciones ambientales de la época (alimentación y estilo de vida). Este polimorfismo consiste del cambio de un solo nucleótido por otro, y está ubicado en la posición 104.858.554 del gen *ABCA1*. Específicamente es el cambio de una *Citosina* por una *Timina* en la región codificante del gen *ABCA1* en la posición de aminoácidos 230, con lo cual se observa la

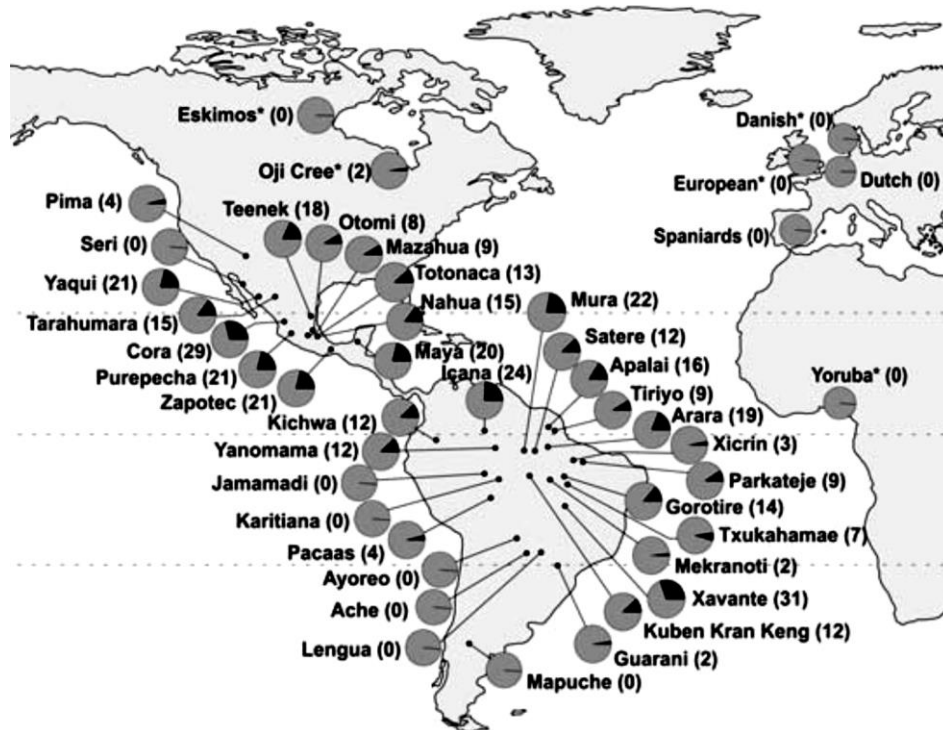
producción del aminoácido *Cisteína* (TGT) en lugar del aminoácido *Arginina* (CGT); haciendo uso de la nomenclatura a este cambio también se le denomina Arg230Cys, o R230C. El alelo ancestral se identifica como R230 o alelo A, mientras que la variante se identifica como 230C o alelo G. El poseer una sola copia del alelo G (heterocigosis) se relaciona al padecimiento de *hipo α -lipoproteinemia familiar*, trastorno hereditario que implica deficiencia en la producción de colesterol HDL y sus respectivas consecuencias debido a la falla en la extracción del colesterol intracelular; pero poseer dos copias del alelo G (homocigosis) se relaciona con una patología más severa denominada *enfermedad de Tangier* (Marcil et al., 1999; Rust et al., 1999; Villarreal-Molina, 2007; Villarreal-Molina, 2008; Hünemeier et al, 2012).

Los individuos que padecen la *enfermedad de Tangier* presentan una ausencia casi completa de HDL en sangre, formación de depósitos de colesterol en diversos tejidos, hiperplasia amigdalar (amígdalas grandes con un color anaranjado o gris), esplenomegalia, linfadenopatía (contenido de colesterol en nódulos linfáticos 100 veces superior al normal) y neuropatía (mononeuritis múltiple, debilidad, parálisis y atrofia muscular, ptosis y pérdida de sensibilidad termoalgésica), todo esto promoviendo un riesgo alto de padecer enfermedad cardiovascular prematura (Pérez-Gallofré y Gómez-Gerique, 1987; Rust et al., 1999; Sánchez de Medina, 2000).

En relación al polimorfismo rs9282541 se inscribe el estudio de Acuña-Alonso et al. (2010), donde se recabaron datos de 4.405 individuos de 36 diferentes grupos amerindios y 863 individuos europeos y asiáticos. La variante 230C fue identificada positivamente en 29 de los 36 grupos amerindios con una frecuencia

promedio de 12% (alcanzando frecuencias de hasta el 31%), un incremento de la frecuencia hacia el centro del continente americano, en países entre Brasil y México, y un decrecimiento de la frecuencia hacia los extremos norte y sur del continente (figura 2). Además, la variante no fue identificada en ningún grupo étnico de los otros continentes lo cual, hasta los momentos, indica que el 230C es un alelo exclusivo de poblaciones amerindias o descendientes de ellas, y que podría ser empleado como marcador genético para la identificación de la ascendencia amerindia de una población. Así mismo, la presencia de este polimorfismo fue asociada directamente con niveles bajos de colesterol HDL y con un alto índice de masa corporal en diversas poblaciones amerindias de México como los pima, en Brasil con los parkateje y en Bolivia con los quechua.

Figura 2: Frecuencias del polimorfismo *rs9282541* para el mundo (Acuña-Alonzo et al. 2010 [modificado para la investigación]).



Posteriormente, Hünemeier et al. (2012) ampliaron el estudio con 229 individuos pertenecientes a 19 poblaciones amerindias, las cuales sumadas a las muestras de la investigación previa de Acuña-Alonso et al. (2010) totalizaron 1.905 individuos estudiados. Estimaron la edad de la variante 230C en unos 7.540 AP, lo cual es compatible con su origen ocurriendo dentro del continente americano, y proponen que la domesticación del maíz llevada a cabo en un principio por las poblaciones de agricultores de la región de México entre 6.000 y 10.000 AP, sumado a los períodos de escasez de recursos y el entonces beneficioso HDL bajo en algunos individuos, fue la fuerza impulsora para el incremento de las frecuencias del rs9282541 en esta región, así como su dispersión hacia el sur.

Flores-Dorantes et al. (2010) y Aguilar-Salinas et al. (2011) realizan estudios en 1.253 niños y 1.729 individuos adultos en México con el propósito de relacionar la frecuencia del polimorfismo rs9282541 y niveles de colesterol HDL. En el primer estudio la frecuencia alélica fue del 10%, mientras que para el segundo fue del 18,7%. En ambos, los portadores de la variante presentaron niveles reducidos de la lipoproteína de alta densidad en comparación con los no portadores, con lo que concluyen que la 230C juega un rol importante en la regulación de los niveles del colesterol HDL, reconociendo que se trata de un proceso poligénico y multifactorial.

En este punto es pertinente recordar que el estudio de poblaciones de riesgo ante patologías cardiovasculares o endocrino-metabólicas es importante para la Salud Pública y la Antropología en la medida en la que poblaciones amerindias como los warao pueden verse beneficiadas de investigaciones de este tipo, que abordan las

probables causas genéticas a estos problemas de salud de origen multifactorial tan comunes hoy día.

1.4. Los warao y su estado de salud cardio-metabólico

Dentro de las investigaciones sobre el estado de salud de la población warao se pueden mencionar estudios bioquímicos llevados a cabo en la última década como el de Case et al. (2006). Quienes evaluaron los factores de riesgo asociados a Diabetes Mellitus tipo 2 y otras alteraciones metabólicas relacionadas con hábitos alimentarios y actividad física en un caserío warao de Delta Amacuro. Este estudio reportó niveles elevados de colesterol HDL, lo cual se relacionó con un riesgo bajo para el desarrollo de diabetes, obesidad y enfermedad cardiovascular, posiblemente debido a que dicho grupo pareciera mantener un estilo de vida más tradicional, inherente a su cultura.

La investigación de Brito et al (2013), evaluó los componentes del síndrome metabólico en una comunidad perteneciente a la etnia warao del Estado Monagas; la conclusión principal de este estudio fue que una alta proporción de los participantes presentaron síndrome metabólico, destacando factores como alta frecuencia de obesidad abdominal, niveles bajos de colesterol HDL, niveles elevados de triglicéridos y glicemia en sangre, así como tensión arterial elevada. De igual manera, Lares et al. (2011) también evaluaron marcadores bioquímicos y antropométricos en una población warao de Delta Amacuro, los componentes de su dieta y la relación entre estos valores; los resultados de esta investigación indican que la muestra

poblacional presentó niveles bajos de HDL (37,22 mg/dL) y que practican una dieta rica en carbohidratos complejos y fibra obtenidos principalmente del consumo de la fruta de la palma moriche y de la yuca.

Rosas (2012) y González (2012) realizaron trabajos de grado para la Licenciatura en Bioanálisis en la Universidad de Oriente, en los que evaluaron perfil lipídico, perfil hematológico, antropometría y nutrición de la población warao en Delta Amacuro. Los resultados obtenidos señalan a estas poblaciones como susceptibles al padecimiento de anemias, con malnutrición tanto por déficit como por exceso de nutrientes (específicamente se observó un consumo elevado de grasas y carbohidratos simples), con valores elevados de colesterol total, triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad (colesterol LDL) y valores bajos de HDL. Además, una gran proporción de mujeres warao presentaron sobrepeso y obesidad en diferentes caseríos.

Los resultados de estos estudios permiten observar de qué manera estas poblaciones amerindias comienzan a enfrentar problemas de salud los cuales probablemente ven su origen en la interacción entre polimorfismos que afectan ciertos procesos metabólicos y la adopción de hábitos alimentarios externos y poco saludables. Esto evidencia la importancia de evaluar la presencia de genes que predispongan a poblaciones amerindias al padecimiento de obesidad, dislipidemias, diabetes, síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular, como es el caso del gen *ABCA1* y sus variantes.

2. CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

2.1. Los warao

La República Bolivariana de Venezuela es rica en su diversidad de poblaciones autóctonas; entre ellas se encuentra un grupo que se autodenomina *warao*. Esta población se localiza al nororiente del país, habitando las islas y caños del delta del río Orinoco y las zonas aledañas a este; la región se compone principalmente del estado Delta Amacuro y se extiende hasta los estados Monagas, Sucre y Bolívar (figura 3) (Wilbert y Ayala, 2007; Wilbert y Ayala, 2011).

Warao es una autodenominación que significa *gente de canoa* (o gente de tierra baja); para referirse a los no warao éstos emplean el término *jotarao*, que significa, *gente de tierra alta* (de tierra firme) (Heinen, 2011).

De acuerdo al censo poblacional del año 2011, la población warao se componía de casi 50.000 individuos en el territorio nacional, con un 82% habitando el estado Delta Amacuro y un 13% en el estado Monagas (INE, 2011).

Su territorio ancestral está conformado por esta zona deltaica desde hace aproximadamente 7.000 a 8.000 años, una llanura de unos 22.500 km² demarcada por el caño Manamo en el oeste, el Río Grande al sur y el océano Atlántico, que bordea todas sus costas; sin embargo, y como sucede con la mayoría de las etnias indígenas del territorio, es poco lo que se sabe de ellos en el período anterior a la conquista y colonización; en cuanto a los warao, esto pudiera estar relacionado tanto al hecho de

emplear materia prima altamente perecedera (palmas de la zona) para la fabricación de su cultura material, como a su habitación en los humedales, una región, valga la redundancia, de excesiva humedad (Wilbert y Ayala, 2007; Heinen, 2011).

Figura 3. Ubicación actual de la población warao en la República Bolivariana de Venezuela (Wilbert y Ayala, 2007)



En este punto se debe recordar la existencia del debate previamente mencionado sobre el origen de esta etnia indígena; dentro de la información existente

en el ámbito de la lingüística, Swadesh (1959) y Greenberg (1960) contemplan la posibilidad de una relación entre los warao y los barí (pensados como pertenecientes al grupo lingüístico proto-Chibcha); este último localizado en la Sierra de Perijá, Estado Zulia. Estos grupos habrían ingresado a Suramérica por el istmo centroamericano de Panamá junto con otros de filiación proto-Chibcha, y una vez allí no solo habrían migrado por el norte de Suramérica, sino también por el sureste y noreste, concordando con las rutas migratorias propuestas para dichas poblaciones (Schmitz, 1983; Salazar y Vargas, A., 1992; Vargas, I. y Sanoja, 1992).

Sin embargo, otras investigaciones clasifican a los warao como lengua aislada e independiente. Hasta los momentos ninguna de las dos propuestas ha sido aceptada como definitiva, pero pudiera tratarse de una filiación lingüística independiente de origen proto-Chibcha (Wilbert y Ayala, 2007; Heinen, 2011; Lugo, 2013).

2.1.1. Datos genéticos de la etnia warao

Dentro de los estudios realizados a la población warao en los últimos 70 años podemos encontrar la siguiente información en un compendio que realiza Arends T. (1992).

En los warao se ha identificado el alelo O, del grupo sanguíneo ABO, en el total de la muestra poblacional. El haplotipo más frecuente del sistema Rhesus (Rh) fue el CDe (R₁) con más del 60%, seguido del cDE (R₂) con poco menos del 30% y

ausencia del cde (r), siendo el 'd' (o la ausencia del 'D') el indicador para *Rh-*; todo lo anterior permite identificarlos como *Rh+* (Arends, 1992).

Sólo un 2% de los warao estudiados fue identificado como Diego positivo (Di^*a), mientras que el 98% restante se observó como Diego negativo (Di^*b). Esta frecuencia tan baja en el Di^*a , una variante descrita como marcador mongoloide y observada ampliamente en amerindios y sus descendientes (incluyendo etnias venezolanas de filiación lingüística Caribe y Arawak estudiadas), ha aportado información relevante a la discusión sobre el origen de los warao (Layrisse y Wilbert, 1999; Arends, 1992).

Para el sistema MNSs, el alelo M se observó en valores que oscilan alrededor del 40%, lo que los diferencia de otras poblaciones indígenas cuyas frecuencias superan el 80% para este alelo. De hecho, el haplotipo Ms no excedió el 36%, mientras que en el resto de las poblaciones la frecuencia se elevó por encima del 50% (Arends, 1992).

Dentro del estudio de los haplogrupos del cromosoma Y, se observó el QM3* (amerindio) en un 100% de la muestra poblacional warao (Bortolini, et al, 2003). De igual manera, con el ADN mitocondrial se pudo identificar positivamente la ancestría amerindia en esta población, se observó una frecuencia del 30% para el haplogrupo A2, 58% para el C1, y del 12% para el haplogrupo D1, todos estos amerindios (Izaguirre et al, 2014). Lo anterior indica un aislamiento genético amerindio tanto por línea materna como por línea paterna.

2.1.2. Estilo de vida de los warao

Las comunidades warao presentan características particulares dependiendo de la zona del delta en la que habiten, y estas características permiten en mayor o menor medida diferenciarlas entre sí. Por ejemplo, los grupos que viven cerca de las poblaciones criollas, hacia Tucupita, se encuentran más expuestos al estilo de vida y las costumbres criollas occidentales y están más dispuestos a añadir estos procesos a sus rutinas o a intercambiar sus actividades tradicionales por aquellas, mientras que los que se encuentren ubicados en sitios más aislados del delta podrían mantener un estilo de vida más tradicional con menos influencias externas (Heinen, 2011).

Su estructura social tradicional es igualitaria, matrilocal y matrifocal. Con una organización en unidades domésticas o casas de una a tres familias extendidas (parentesco consanguíneo), y aglomeraciones *awarao* de cuatro a seis unidades domésticas (parentesco ficticio). Los subsistemas de la organización warao giran alrededor del eje yerno/suegro (*dawa/arahí*). Debido a la regla de residencia postmatrimonial uxori-matrilocal, el yerno (*dawa*) no sólo debe abandonar su comunidad e irse a vivir con sus suegros, sino que debe construir la casa para su mujer y prestar ayuda en la casa de sus suegros (Heinen, 2011).

El prestigio del suegro (*arahí*) presenta un aumento directamente proporcional al crecimiento de su unidad doméstica, a éste como jefe de la casa se le conoce como *aidamo*; sin embargo, es la mujer principal del suegro quien es dueña formal de la

casa y se le llama *hanoko arotu*, ésta tiene derecho a quedarse en la casa mientras la segunda esposa se dedica a los trabajos de recoger leña y cosechar (Heinen, 2011).

El sistema de parentesco warao ha sido descrito como Hawaiano en la generación Ego, con una terminología bifurcada colateral en la primera generación ascendente; también se los ha descrito como un grupo altamente endogámico. Por tradición, entre los warao se permitía y practicaba el matrimonio entre parientes del mismo nivel genealógico, así como entre primos cruzados, paralelos, matrilaterales o patrilaterales, exceptuando la unión entre niveles genealógicos diferentes. También se podían observar uniones entre miembros de asentamientos diferentes, las que, aunque permitidas, eran poco frecuentes. Efectivamente, existía una tendencia clara hacia la endogamia en la medida en que se prefería permanecer en el lugar de nacimiento (Suárez, 1972; Heinen, 2011).

Las actividades económicas tradicionales (que existían aún a principios del siglo XX) de los warao, basadas en el autoconsumo y el trueque, incluyen la pesca de diversos peces y crustáceos, la caza de aves y roedores, y la recolección y aprovechamiento de los productos selváticos de la zona como el Moriche (*Mauritia flexuosa*) y el Temiche (*Manicaria saccifera*), las cuales, junto a otras palmas, consistían su principal ingesta de nutrientes vegetales y carbohidratos hasta el contacto con los europeos. De las palmas aprovechaban la fécula llamada *sagú*, los corazones llamados *palmito*, también los frutos de estas y otros árboles, y las larvas de un escarabajo (*Rhynchophorus palmarum*) que deposita sus huevos en las palmas de moriche (Heinen, 2011; Wilbert y Ayala, 2011; Nava, 2012).

2.1.3. Consecuencias del abandono del aislamiento

Para los warao, el impacto del contacto con europeos y africanos hace 500 años fue significativo, aunque menor que para el resto de las poblaciones indígenas. Se cree que esto estuvo relacionado al hecho que, para los europeos, el delta del Orinoco no fue considerado un lugar idóneo para colonizar. De alguna manera su hábitat funcionó a modo de refugio de la barbarie que sufrió el resto de la población indígena que entró en contacto con los extranjeros. Debido a esto, la cultura warao sufrió pocos cambios culturales y sociales durante el período de conquista y colonización, al menos en comparación con otros pueblos vecinos (Wilbert y Ayala, 2007; Heinen, 2011).

Sin embargo, el ingreso de extranjeros al territorio tuvo su impacto en las comunidades warao. Dentro de las intervenciones más significativas se encuentran el empleo de los caños del delta por los europeos para ingresar al territorio mediante la navegación, el contacto de las comunidades menos aisladas con los misioneros capuchinos aragoneses a partir de 1760 y la fundación de diversos poblados criollos a partir de 1800. Alrededor de 1920 tiene lugar el ingreso del ocumo chino (*Colocasia esculenta*), un producto jamás antes visto en la región, y el inicio de su cultivo entre los warao asistidos por los misioneros. A partir de 1930, la explotación del caucho, que empleó mano de obra indígena, y del petróleo en la región ocasionó cambios radicales tanto ambientales como culturales. Ambas industrias implicaron tal destrucción del ecosistema deltaico que muchas comunidades warao se vieron obligadas a abandonar su territorio ancestral y migrar hacia zonas de habitación

criollas, con lo que se acrecentó el cambio en sus patrones de asentamiento, cada vez más y más sedentarios (Heinen, 2011; Wilbert y Ayala, 2007; Nava, 2012).

Culturalmente esto acarrió cambios de gran magnitud en su sistema económico, y, por supuesto, en su alimentación. La educación occidental de los warao con los misioneros desde hace más de dos siglos, implicó la instrucción de este método novedoso para ellos, la agricultura junto con el sistema de tala y quema. De esta forma pasaron de una economía de recolección, pesca y cacería, a una economía agrícola enfocada principalmente en la siembra del ocumo chino (Wilbert y Ayala, 2007; Heinen, 2011).

Así mismo, se ha podido observar que actualmente los warao mantienen relaciones de concubinato con criollos, aunados por la cercanía entre sus centros de poblamiento. De hecho, en la mayoría de las comunidades impera la necesidad de obtener la moneda nacional para asegurar su subsistencia. Éstas son las que se ven más influenciadas por patrones ajenos a los que se han ido aclimatando de forma acelerada, lo cual, efectivamente, ha transformado su estructura social. El concepto de familia se ha abandonado por el de familia nuclear. Se ha desplazado a la mujer como eje central dentro del hogar, y es el hombre quien ahora ocupa este lugar y se encarga de la toma de decisiones porque le es más accesible la obtención de dinero como salario. De hecho, a lo largo de los años el gobierno creó puestos de trabajo como comisario, policía, transportista, entre otros, los cuales pueden ser ocupados por hombres warao, pero que también han transformado su estructura política donde los

ancianos fueron reemplazados en sus cargos como jefes por personas con estatus dentro de estos cargos (Wilbert y Ayala, 2007).

En el presente, los warao que han ingresado al mercado laboral ‘criollo’ por lo general ejercen trabajos con los cuales no perciben una remuneración suficiente para que su alimentación les permita gozar de un estado de salud óptimo. La falta de recursos y la influencia de los patronos criollos los ha llevado a consumir una gran cantidad de productos alimenticios manufacturados y de bajo costo que se resumen en harinas refinadas de trigo o maíz y sus derivados, arroz procesado, embutidos, bebidas gaseosas azucaradas, bebidas alcohólicas procesadas, aceites comestibles procesados y diversos alimentos enlatados. Sin embargo, no debe ser únicamente esta situación la que permite observar una alta tasa de obesidad no solo en las comunidades warao, también en numerosas comunidades de otras etnias indígenas (Nava, 2012; Wilbert y Ayala, 2007; Wilbert y Ayala, 2011).

Es pertinente señalar que este fenómeno depende en gran medida del nivel de aislamiento geográfico en que se encuentran las diferentes comunidades warao. Son numerosas las poblaciones que además de consumir productos manufacturados también cultivan, cazan y pescan para su autosubsistencia. Dentro de los productos de cultivo, además del ocumo chino, que ha reemplazado a la fécula del moriche como carbohidrato tradicional, se pueden mencionar la yuca y el maíz, el cambur, la caña de azúcar y el plátano. La pesca se concentra en unas pocas especies, principalmente el morocoto (*Piaractus brachypomus*) y cangrejos; y los productos de la caza son el acure (*Dasyprocta aguti*), la lapa (*Cuniculus paca*), el chigiüre (*Hydrochoerus*

hydrochaeris), el báquiro (*Pecari tajacu*) y el venado, también la pava de monte (*Penelope purpurascens*), el pato y la guacharaca (*Ortalis ruficauda*) (Nava, 2012; Wilbert y Ayala, 2007; Wilbert y Ayala, 2011).

3. SÍNTESIS METODOLÓGICA

3.1. Diseño de la investigación

La presente investigación se plantea como descriptiva, porque consiste en la caracterización de un hecho con el propósito de conocer sus proporciones, describirlo, interpretarlo, entender su naturaleza y factores constituyentes (Arias, 1999).

3.2. Población y muestra

Se estudiaron 115 individuos sin parentesco cercano, provenientes de 6 comunidades o caseríos de la etnia warao ubicados en el municipio Tucupita del estado Delta Amacuro (figura 4); los nombres de estas comunidades son: Caigual, Güires, Yakariyene, Horqueta, Janakosebe y Volcán. Las muestras de ADN de estos individuos pertenecen al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). A continuación, una breve descripción de estas poblaciones (CISOR, 2008):

- a) La comunidad **Caigual**, está ubicada en la parroquia José Vidal Marcano y cuenta con una población de 71 individuos pertenecientes a la etnia warao (se poseen 19 muestras de ADN).
- b) La comunidad **Güires** también se encuentra en la parroquia José Vidal Marcano y cuenta con una población de 90 individuos warao (se poseen 17 muestras de ADN).

- c) La comunidad **Yakariyene** está ubicada en la parroquia Antonio José de Sucre. Este caserío cuenta con una población de 260 individuos, fue creada en 1983 pero recientemente fueron mudados al asentamiento Janakosebe (se poseen 13 muestras de ADN).
- d) La comunidad **Janakosebe**, ubicada en la parroquia Mariscal Antonio José de Sucre del municipio Tucupita, no cuenta con datos censales ya que fue diseñada para reubicar a los indígenas provenientes de Yakariyene (se poseen 25 muestras de ADN).
- e) La comunidad **Horqueta**, ubicada en la parroquia Virgen del Valle, contaba con 134 individuos censados para el año de 1992 (se poseen 33 muestras de ADN).
- f) La comunidad **Volcán**, ubicada en la parroquia Juan Millán, cuenta con 49 individuos y es un asentamiento provisional aprovechado por los indígenas warao que necesitan estar cerca de la capital (se poseen 9 muestras de ADN).

Las muestras de sangre para extracción de ADN fueron recolectadas en trabajos de campo realizados en el año 2012 por la Dra. Merlyn Vívenes de Lugo del Laboratorio de Genética, Departamento de Bioanálisis, Escuela de Ciencias de la Universidad de Oriente; quien seleccionó a los individuos con parentescos lejanos, excluyendo a padres, hijos y hermanos biológicos. Actualmente las muestras de ADN y los datos de los valores bioquímicos pertenecen al Laboratorio de Genética Humana del IVIC.

Figura 4: Ubicación de los asentamientos warao estudiados en la presente investigación (Wilbert y Ayala, 2007 [modificado para la investigación]).



Esta investigación está enmarcada en el proyecto “Estudio de polimorfismos moleculares de interés en genética de poblaciones, salud pública y farmacogenética, en indígenas venezolanos”, el cual cuenta con la aprobación del Comité de Bioética del IVIC (Castro de Guerra y Vívenes de Lugo, 2012).

3.3. Análisis genético

El ADN se encuentra disponible y fue previamente extraído en el laboratorio de Genética Humana del IVIC a partir de sangre completa utilizando el método de extracción salino descrito por Lahiri y Nurnberger (1991), modificado en dicho laboratorio.

Para conocer la frecuencia del polimorfismo rs9282541 del gen *ABCA1* se detectó el SNP correspondiente en la secuencia de ADN codificante para dicho gen. Para la amplificación de los fragmentos específicos del material genético y la detección de los alelos, tanto la variante 230Cys (alelo G) como el alelo ancestral, se empleó la siguiente técnica:

- Reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (PCR a tiempo real):

Esta técnica consta de una amplificación *in vitro* de la molécula de ADN en una solución a la que se le añaden sondas de hibridación específica denominadas *sondas TaqMan* marcadas con fluorocromos para los diferentes alelos, las cuales, al unirse a la secuencia determinada de la molécula de ADN, emiten una fluorescencia que puede ser captada y medida. La cantidad

de fluorocromo liberado será registrada por un lector de fluorescencia a medida que se vaya realizando la amplificación, diferenciando la emisión de cada alelo entre sí. Este proceso permite medir la cantidad de ADN sintetizado en cada momento de la amplificación, ya que la emisión de fluorescencia producida en la reacción es proporcional a la cantidad de ADN que se va replicando (en anexo 1 se explica con mayor detalle el proceso) (Costa, 2004).

3.4. Análisis bioquímico

En relación a los parámetros bioquímicos, las muestras de sangre destinadas a aportar los valores de perfil lipídico han sido previamente procesadas y sus resultados constituyen datos que actualmente pertenecen al Laboratorio de Genética Humana del IVIC (Rosas, 2012; González, 2012). Se tomaron como valores de referencia los indicados por el Programa Nacional para la Educación sobre el Colesterol (del inglés *the National Cholesterol Education Program* o NCEP, 2001) para formar 3 rangos definidos de la siguiente manera: HDL bajo/poco saludable (≤ 39 mg/dL), HDL normal (40-59 mg/dL) y HDL ideal/óptimo (≥ 60 mg/dL).

3.5. Análisis estadístico

Para la elaboración de las bases de datos, gráficos y tablas se empleó el programa EXCEL, de Microsoft Office 2016.

Las frecuencias alélicas y genotípicas fueron determinadas por conteo directo, y el equilibrio Hardy-Weinberg a través de la prueba Chi cuadrado (χ^2) con el

programa de MAXLIK, basado en el método de máxima verosimilitud de Reed y Schull (1968).

Se compararon los seis caseríos warao entre sí y luego con otras poblaciones indígenas de América localizadas en México, Guatemala, Costa Rica, Panamá, Brasil, Paraguay, Colombia, Guyana Francesa, Chile y Bolivia (Acuña-Alonso et al., 2010; Hünemeier et al., 2012).

Las comparaciones de las frecuencias genotípicas y alélicas entre la población de estudio y otras poblaciones, se realizaron a partir del cálculo de las distancias genéticas para así obtener la matriz de distancia F_{st} entre pares de poblaciones a partir del programa Arlequin 3.5.1 (Excoffier et al., 2005). Posteriormente se elaboraron los dendrogramas correspondientes mediante el método Neighbor-Joining (Saitou y Nei, 1987), en el editor Drawtree, con el paquete de programas estadísticos PHYLIP 3.6 (Felsenstein, 2004).

Se usaron pruebas t-Student y diferencias de proporciones mediante el software MedCalc (2015) para comparar los valores de colesterol HDL, de acuerdo a los diferentes genotipos y según sexo.

4. RESULTADOS

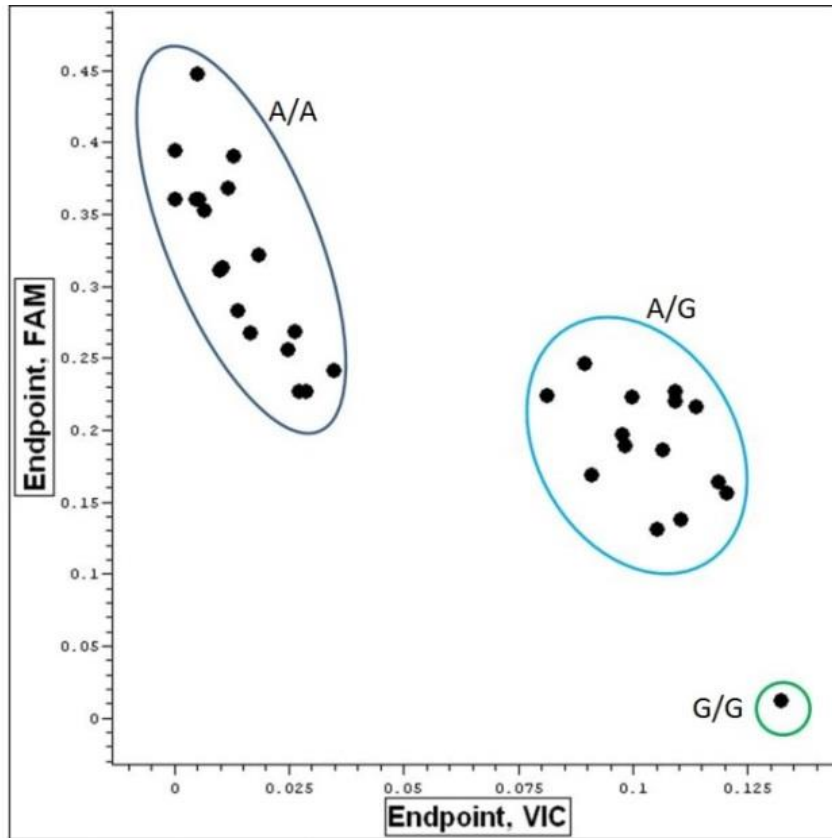
4.1. Descripción de la muestra y del trabajo de laboratorio.

Se analizaron 115 muestras de ADN (N=115) provenientes de individuos pertenecientes a la etnia warao. Estas personas proceden de 6 localidades diferentes ubicadas en el Municipio Tucupita del Estado Delta Amacuro, las cuales llevan por nombre *Caigual*, *Güires*, *Yakariyene*, *Horqueta*, *Janakosebe* y *Volcán*. Todas las muestras fueron cuantificadas y posteriormente amplificadas de forma exitosa mediante PCR en tiempo real.

Haciendo uso de la nomenclatura establecida se identificó al alelo ancestral (Arg230 o R230) con la letra “A” y a la variante (230Cys o 230C) con la letra “G”, mediante lo cual los genotipos posibles fueron denominados como “A/A” para la homocigosis del alelo ancestral, “G/G” para la homocigosis de la variante y “A/G” para la heterocigosis.

La figura 5 corresponde a los resultados generados por el programa con la asignación de los genotipos posibles, en este caso, los del caserío Horqueta; en este grupo se identificaron los 3 posibles genotipos y el software del termociclador agrupó los resultados de las muestras en nubes diferenciables entre sí, cada una de las cuales se procedió a encerrar en óvalos para mayor claridad.

Figura 5. Representación gráfica en nubes de los genotipos posibles.



Endpoint FAM: reconocimiento del alelo ancestral
Endpoint VIC: reconocimiento de la variante

4.2. Resultados del estudio del polimorfismo *rs9282541* en los warao: frecuencias genotípicas y alélicas en los diferentes caseríos y distancias genéticas.

4.2.1. Frecuencias genotípicas y alélicas de los caseríos warao.

En los diferentes caseríos, las frecuencias alélicas del alelo ancestral oscilaron entre el 76,56% y el 97,37%, mientras que las frecuencias genotípicas para su homocigosis (A/A) oscilaron entre el 56,25% y el 94,74%; el estado de heterocigosis

(A/G) se observó entre un 5,26% y un 40,62% (Tabla 1). La variante presentó frecuencias alélicas de entre un 2,63% y un 23,44%; y su homocigosis (G/G) se observó con un 3,13%, representado por un único individuo en el caserío Horqueta. La prueba χ^2 evidenció que todos los caseríos se encuentran en estado de equilibrio de acuerdo al modelo *Hardy-Weinberg*, para un nivel de significación de $p \leq 0,05$.

Tabla 1. Frecuencias genóticas y alélicas en los caseríos warao.

Caseríos	Genotipos	n (%)	Alelos	%	
Horqueta	A/A	18 (56,25)	A	76,56	$\chi^2 = 0,016$; 1Gl
	A/G	13 (40,62)	G	23,44	
	G/G	1 (3,13)	-	-	
		32 (100)		100	
Güires	A/A	14 (82,36)	A	91,17	$\chi^2 = 0,0076$; 1Gl
	A/G	3 (17,64)	G	8,83	
	G/G	0 (0,0)	-	-	
		17 (100)		100	
Janakosebe	A/A	19 (76,0)	A	88	$\chi^2 = 0,0177$; 1Gl
	A/G	6 (24,0)	G	12	
	G/G	0 (0,0)	-	-	
		25 (100)		100	
Volcán	A/A	7 (77,9)	A	88,89	$\chi^2 = 0,0115$; 1Gl
	A/G	2 (22,1)	G	11,1	
	G/G	0 (0,0)	-	-	
		9 (100)		100	
Yakariyene	A/A	10 (76,92)	A	88	$\chi^2 = 0,0149$; 1Gl
	A/G	3 (23,07)	G	11	
	G/G	0 (0,0)	-	-	
		13 (100)		100	
Caigual	A/A	18 (94,74)	A	97,37	$\chi^2 = 0,0005$; 1Gl
	A/G	1 (5,26)	G	2,63	
	G/G	0 (0,0)	-	-	
		19 (100)		100	

4.2.2. Distancias genéticas (matriz pairwise Fst) entre los caseríos warao.

El grado de diferenciación genética entre los seis caseríos se analizó a través del cálculo de distancias entre pares de poblaciones (pairwise Fst) cuyos valores se presentan en una matriz (Tabla 2) obtenida mediante el programa Arlequín 3.5.1 a partir de las frecuencias genotípicas de cada caserío. Las menores distancias se observaron entre Güires, Janakosebe, Volcán y Yakariyene, quienes presentaron valores negativos indicando el solapamiento entre estos caseríos. La mayor distancia se encontró entre Horqueta y Caigual (0,13252), fue la única diferencia estadísticamente ($p \leq 0,05$) y es ocasionada por la presencia del único portador del genotipo G/G entre los sujetos del caserío Horqueta.

Tabla 2. Matriz de distancias genéticas (Fst) entre los caseríos warao.

	Horqueta	Güires	Janakosebe	Volcán	Yakariyene	Caigual
Horqueta	0,00000					
Güires	0,04723	0,00000				
Janakosebe	0,02523	-0,01993*	0,00000			
Volcán	0,01013	-0,04122*	-0,03886*	0,00000		
Yakariyene	0,01674	-0,03090*	-0,03001*	-0,04923*	0,00000	
Caigual	0,13252	0,00825	0,03586	0,02877	0,03420	0,00000

*Distancias menores

4.2.3. El conjunto warao

Como se mencionó previamente, la única diferencia estadísticamente significativa entre los caseríos warao se encontró entre Horqueta y Caigual, sin embargo, al hacer la prueba se observó que la misma se debía a la presencia del homocigoto G/G en la muestra proveniente de Horqueta; en virtud de lo anterior y los pequeños tamaños de muestra, se decidió unificar los datos para poder emplear la población warao como unidad al realizar las comparaciones y análisis posteriores.

En la Tabla 3 se presentan las frecuencias genotípicas y alélicas observadas en la muestra poblacional warao (N=115). Se observan frecuencias genotípicas del 74,79% para la homocigosis A/A, del 24,34% para la heterocigosis (con 28 individuos) y del 0,87% para la homocigosis G/G, representada por un único individuo identificado en la localidad Horqueta. En cuanto a las frecuencias alélicas estas resultaron ser del 86,95% para el alelo A y del 13,05% para la variante. El grupo warao se encuentra en un estado de equilibrio poblacional para este locus de acuerdo al modelo *Hardy-Weinberg* ($\chi^2 = 0,6354$; 1Gl, $p \leq 0,05$).

Tabla 3. Frecuencias genotípicas y alélicas de la etnia warao.

Genotipos	n (%)	Alelos	%
A/A	86 (74,79)	A	86,95
A/G	28 (24,34)	G	13,05
G/G	1 (0,87)	-	-
Total	115 (100,0)	Total	100,0

4.3. Distribución de frecuencias del polimorfismo rs9282541 en los warao y otros amerindios

En los warao (ubicados exclusivamente al Oriente de Venezuela), se identificó una frecuencia alélica del 13,05% para el SNP rs9282541 (alelo G); las frecuencias alélicas reportadas para esta variante en otros grupos indígenas americanos se encuentran en la Tabla 4 (datos y clasificación de Hünemeier et al., 2012). Se excluyeron de estos datos, y del resto del estudio, a las poblaciones con frecuencias del 0,0%, el propósito era establecer semejanzas con poblaciones portadoras del polimorfismo.

En líneas generales, las frecuencias más elevadas se han identificado en Centroamérica, también en la región norte del Amazonas, Guyana Francesa y Brasil. Las frecuencias más bajas se identificaron en poblaciones que residen en la región central de Brasil y más al sur, en la frontera con Argentina y Paraguay.

Tabla 4. Frecuencias alélicas y ubicación geográfica de las poblaciones amerindias en las que se ha identificado el polimorfismo rs9282541.

Población	%230C	País
Mesoamérica. Sistema de subsistencia tradicional: agricultura (1218)		
Yaqui (45) ¹	21	México
Tarahumara (109) ¹	15	México
Teenek (67) ¹	18	México
Cora (123) ¹	29*	México
Purepecha (35) ¹	21	México
Mazahua (83) ¹	09	México
Mixe (19) ²	11	México
Nahuatl (267) ¹	17	México
Totonaco (113) ¹	13	México
Otomíes (42) ¹	8	México
Zapoteca (125) ^{1,2}	24	México
Maya (110) ¹	20	México
Kaqchikel-Quiche (17) ²	15	Guatemala
Cabecar (24) ²	10	Costa Rica
Guaymí (35) ²	15	Costa Rica/Panamá
Suramérica. Sistema de subsistencia tradicional: caza/recolección (572)		
Parkatejê, Gaviao (78) ¹	9	Brasil
Mekranoti, Kayapó (25) ¹	2**	Brasil
Mura, Piraha (18) ¹	22	Brasil
Pacaás-Novos, Wari (25) ¹	4	Brasil
Sateré-Mawé (25) ¹	12	Brasil
Apalaí (22) ¹	16	Brasil
Arara (24) ¹	19	Brasil
Guarani (31) ^{1,2}	2**	Brasil
Gorotire, Kayapó (7) ¹	14	Brasil
Xavante (21) ¹	31*	Brasil
Xikrin, Kayapó (17) ¹	3	Brasil
Yanomami (25) ¹	12	Brasil
Txukahamae, Kayapó (30) ¹	7	Brasil
Tiriyó, Trio (25) ₁	8	Brasil
IçanaRiver, Baniwa (19) ¹	24	Brasil
KubenKranKeng, Kayapó (17) ¹	12	Brasil
Wayuu (17) ²	6	Colombia
Palikur (3) ²	33*	Guyana Francesa
Andes. Sistema de subsistencia tradicional: agricultura (115)		
Quechua (16) ²	3	Bolivia
Aymara (22) ²	5	Chile
Hulliche (13) ²	11	Chile
Ingano (6) ²	8	Colombia

(): Tamaño de la muestra.

¹: Acuña-Alonso et al. (2010).

²: Hünemeier et al. (2012).

* Frecuencias más altas** Frecuencias más bajas.

4.3.1. Distancias genéticas entre warao y amerindios para el polimorfismo rs9282541

Para poder establecer afinidades genéticas entre los warao y otros amerindios, se introdujeron las frecuencias genotípicas y alélicas de estas poblaciones portadoras del SNP rs9282541 (Tabla 3 para warao, y Tabla 4 para amerindios) en el programa Arlequín 3.5.1. De este procesamiento de datos se obtuvo una matriz de distancias (Tabla 5) que muestra la diferenciación genética (F_{st}) entre dichas poblaciones.

Tabla 5. Matriz de distancias genéticas (F_{st}) entre warao y amerindios portadores del SNP rs9282541.

	Warao		Warao
Tiriyó	-0.00030*	Teenek	0.00345
Tarahumara	-0.00267*	Wayuu	0.00709
Totonaco	-0.00438*	Txukahamae	0.00905
Guaymí	-0.00873*	Maya	0.01520**
Cabecar	-0.00957*	Yaqui	0.01717
Apalaí	-0.01015*	Purepecha	0.01801
Sateré-Mawé	-0.01183*	Mura	0.01803
Yanomami	-0.01183*	Aymara	0.02109
Mixe	-0.01265*	Pacaás-Novos	0.02763
Kaqchiquel	-0.01594*	Quechua	0.02863
KubenKranKeng	-0.01642*	IcanaRiver	0.02947
Hulliche	-0.02083*	Zapoteca	0.02982**
Ingano	-0.03518*	Xikrin	0.03151
Gorotire	-0.03866*	Mekranoti	0.04803**
Arara	0.00086	Guaraní	0.05638**
Otomés	0.00252	Cora	0.06822**
Mazahua	0.00277	Palikur	0.08270
Parkateje	0.00280	Xavante	0.09862**
Nahuatl	0.00288		

* Distancias menores

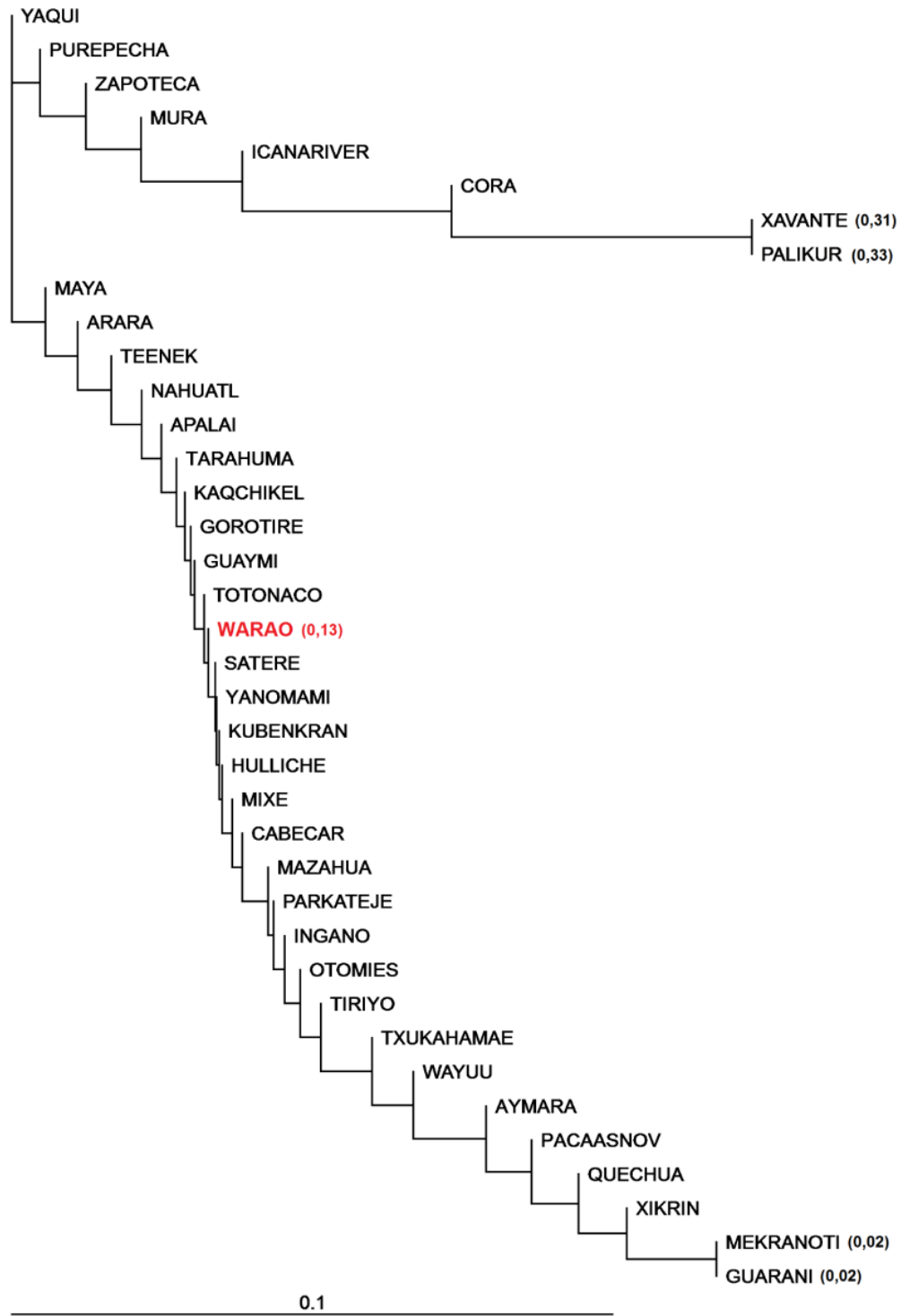
**Diferencias significativas

■	Suramérica – Cazadores-recolectores
■	Mesoamérica – Agricultores
■	Andes – Agricultores

Los valores de la Tabla 5 se han ordenado de menor a mayor partiendo desde tiriyo y culminando con xavante. Las menores distancias genéticas se observaron con 14 pueblos en total. Seis de estos pertenecen al conjunto “Suramérica - Cazadores-Recolectores”, éstos son los tiriyo [-0,00030], apalaí [-0,01015], satere-mawe [-0,01183], yanomami [-0,01183], kuben kran keng [-0,01642] y gorotire [-0,03866]; otras seis, pertenecientes a “Mesoamérica – Agricultores”, también ingresaron en el solapamiento, los tarahumara [-0,00267], totonaco [-0,00438], guaimí [-0,00873], cabecar [-0,00957], mixe [-0,01265] y kaqchikel quiche [-0,01594]. Y del grupo “Andes – Agricultores” se observaron cercanas a warao tan solo a hulliche [-0,02083] e ingano [-0,03518]. Las diferencias estadísticamente significativas sólo se observaron en la comparación con los cora, los zapoteca, los maya, los mekranoti, los guaraní y los xavante ($p \leq 0,05$).

Ahora bien, la Figura 6 corresponde al dendrograma que representa las distancias F_{st} y la filiación genética poblacional para los grupos amerindios donde se ha podido identificar el alelo. En esta figura pueden visualizarse las distancias entre las poblaciones estudiadas; lo que este dendrograma en particular presenta es el agrupamiento de las poblaciones en 2 ramificaciones principales separadas entre sí; la ramificación superior en donde se agrupa un conjunto pequeño y la inferior compuesta por un conjunto mucho mayor en cuyo centro se observa un grupo compacto donde se ubican los warao.

Figura 6. Dendrograma de las 38 poblaciones amerindias en las que se identificó el polimorfismo rs9282541.



(): Frecuencias mayores y menores del alelo G; se ha resaltado a los warao en rojo.

La rama superior está conformada por poblaciones ubicadas en su mayoría en la región de Centroamérica (México), pero también en Guyana Francesa y Brasil; en estos países se han encontrado las frecuencias alélicas más altas para el 230C, y también se observaron valores altos de distancia genética con los warao, previamente descritos en la Tabla 5. La otra ramificación está representada por el resto de las poblaciones y se puede dividir en 3 conjuntos pequeños: un conjunto superior que va desde los maya a los apalaí, un segundo conjunto que abarca desde los tarahumara hasta los cabecar, y el conjunto inferior que empieza con los mazahua y culmina con los mekranoti y los guaraní (poblaciones con las frecuencias alélicas más bajas). Las distancias F_{st} de dichas poblaciones con warao también son elevadas. Justo en el centro del segundo conjunto de la segunda ramificación se consigue a los warao, entre los totonaco (sur de México) y los satere-mawé (norte de Brasil).

De entre todas las poblaciones comparadas con los warao, las mayores diferencias en relación a éstos se observaron hacia un primer extremo con los palikur (Guyana Francesa) y los xavante (Brasil), y hacia el otro con los mekranoti y los guaraní (Brasil); estas cuatro poblaciones son integrantes del grupo “Suramérica - Cazadores-recolectores”. En el dendrograma, los warao se agruparon con etnias como los totonaco (México) y los satere-mawé (Brasil), sin embargo, dentro de la matriz de distancias genéticas F_{st} la menor se observó con tiriyo (al norte de Brasil), seguido de cabecar y guaymí (Chibchas de Costa Rica y Panamá). En general, los warao presentan mayores semejanzas con algunas poblaciones centroamericanas y con brasileñas del norte amazónico.

4.4. Clasificación fenotípica de los warao mediante valores del colesterol HDL y su asociación con los genotipos para el polimorfismo rs9282541.

Para la clasificación fenotípica de los warao se analizaron los datos bioquímicos de 114 individuos provenientes de los 6 caseríos previamente descritos. Los datos fueron clasificados de acuerdo al sexo de cada individuo en: Sexo F (femenino) y Sexo M (masculino); y de acuerdo a su valor de colesterol HDL (mg/dL) en los 3 grupos fenotípicos definidos por el Programa Nacional para la Educación sobre el Colesterol (del inglés *National Cholesterol Education Program* o NCEP, 2001) de la siguiente forma: HDL-bajo/poco saludable (≤ 39 mg/dL), HDL-normal (40-59 mg/dL) y HDL-ideal/óptimo (≥ 60 mg/dL).

A continuación, se presentan los resultados para la agrupación de individuos por sexo y sus respectivos valores de HDL en la muestra poblacional warao.

4.4.1. El conjunto warao

En la Tabla 6, correspondiente al conjunto warao unificado, se observan los valores de HDL totalizados mediante conteo directo empleando el programa Excel. Un 49,12% del grupo de estudio reflejó valores que se ubican dentro del rango definido como “HDL-normal”, los cuales promedian 47,38 mg/dL. Sin embargo, el 40,36% de la muestra presentó valores de HDL clasificables dentro del rango “HDL-bajo”, que promediados resultan en 33,3 mg/dL, lo que significa que casi la mitad de los sujetos evaluados presentan niveles de colesterol HDL considerados como poco saludables. Finalmente, tan solo un 10,52% de los individuos presentó niveles

óptimos de colesterol HDL, los cuales sobrepasan los 60 mg/dL. Las tablas de distribución fenotípica para cada caserío de manera individual se encuentran en el anexo 2.

Tabla 6. Clasificación de los warao según niveles de HDL y el sexo.

	Sexo F (n)	Sexo M (n)	Total(n)	Total (%)	\bar{x} HDL
HDL-bajo (≤ 39 mg/dL)	32	14	46	40,36	33,3 mg/dL
HDL-normal (40-59 mg/dL)	45	11	56	49,12	47,38 mg/dL
HDL-ideal (≥ 60 mg/dL)	11	1	12	10,52	63,67 mg/dL
Total	88	26	114	100,0	-

\bar{x} = promedios

Para evaluar la relación entre los niveles de colesterol HDL y el sexo de los individuos primero se procedió a emplear el programa MedCalc. Como el interés se centra en la observación de los valores de HDL-bajo (menores a los 39 mg/dL), se decidió emplear una clasificación en dos grupos: el primer grupo para dichos niveles y el segundo para los valores que superasen tal umbral (HDL-normal e ideal). Los resultados de este procesamiento se encuentran en la Tabla 7 y Figura 7 la comparación entre los grupos se realizó empleando el método t-Student. El promedio del colesterol HDL en las mujeres es mayor (44,59 mg/dL) que el de los hombres (39,46 mg/dL), esta diferencia es estadísticamente significativa ($p = 0,0311$). Al comparar únicamente el grupo de HDL-bajo entre ambos sexos, se observó de nuevo que la media de dicho valor en las mujeres (33,97 mg/dL) fue mayor que en los

hombres (31,78 mg/dL); esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p = 0,1359$; $p \leq 0,05$).

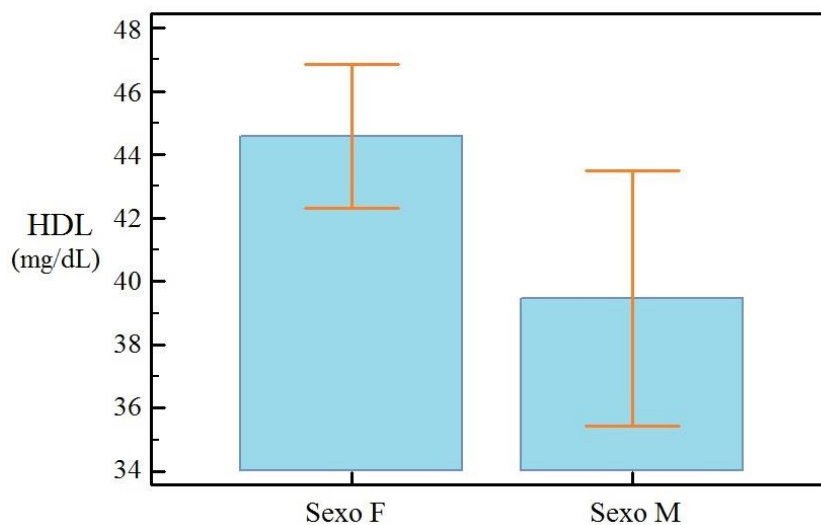
Tabla 7. Distribución de los niveles de HDL según sexo.

	Sexo F		Sexo M		Total		<i>p</i>
	n	$\bar{x} \pm DE$	n	$\bar{x} \pm DE$	n	$\bar{x} \pm DE$	
HDL-Bajo (≤ 39 mg/dL)	32	$33,97 \pm 4,21$	14	$31,78 \pm 5,08$	46	$33,30 \pm 4,55$	0,1359
HDL- Normal/Ideal (≥ 40 mg/dL)	56	$50,64 \pm 8,13$	12	$48,42 \pm 5,79$	68	$50,25 \pm 7,78$	0,3722
Total	88	$44,59 \pm 10,64$	26	$39,46 \pm 9,98$	114	$43,41 \pm 10,67$	0,0311*

* Valor *p* estadísticamente significativo

La Figura 7 presenta de forma ilustrativa esta variación de los promedios de HDL entre mujeres y hombres presentada en la tabla 7, lo que permite visualizar con claridad la diferencia significativa entre los valores de ambos grupos ($p = 0,0311$; $p \leq 0,05$).

Figura 7. Distribución de los niveles de HDL según sexo.



4.5. Presencia del polimorfismo rs9282541 y su relación con niveles de HDL

La Tabla 8 presenta la distribución de los niveles de colesterol HDL según la condición de portadores/no portadores del alelo G separados por sexo; con esto se espera observar una posible relación entre el alelo G y niveles de colesterol HDL-bajo (inferiores a 39 mg/dL).

Tabla 8. Distribución de niveles de HDL según sexo y presencia del alelo G.

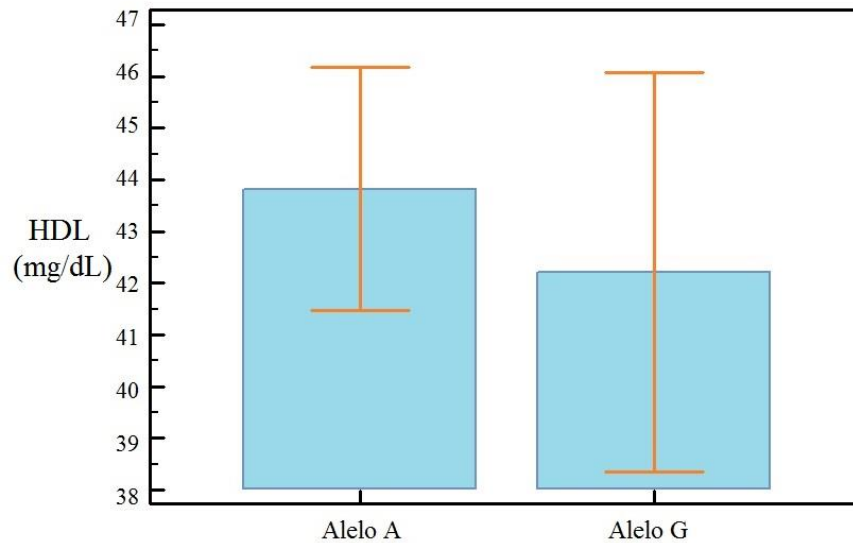
	Sexo F		Sexo M		Total		<i>p</i>	
	n	$\bar{x} \pm DE$	n	$\bar{x} \pm DE$	n	$\bar{x} \pm DE$		
ALELO A	HDL-bajo (≤ 39 mg/dL)	21	33,61 \pm 4,45	12	31,83 \pm 5,49	33	32,96 \pm 4,85	0,318
	HDL- Normal/Ideal (≥ 40 mg/dL)	43	51,02 \pm 7,71	9	49,22 \pm 6,15	52	50,71 \pm 7,44	0,515
	Total	64	45,31 \pm 10,66	21	39,28 \pm 10,46	85	43,82 \pm 10,87	0,02*
ALELO G	HDL-bajo (≤ 39 mg/dL)	11	34,63 \pm 3,82	2	31,50 \pm 2,12	13	34,15 \pm 3,73	0,294
	HDL- Normal/Ideal (≥ 40 mg/dL)	13	49,38 \pm 9,65	3	46,00 \pm 4,58	16	48,75 \pm 8,90	0,571
	Total	24	42,62 \pm 10,55	5	40,20 \pm 8,64	29	42,21 \pm 10,15	0,636

* Valor *p* estadísticamente significativo

En los portadores sólo del alelo ancestral (genotipo A/A) se observan niveles de HDL que promediados resultan en 43,82 mg/dL; en las mujeres de este grupo la media para el total del HDL (45,31 mg/dL) fue mayor que la de los hombres (39,28 mg/dL); esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p = 0,02$; $p \leq 0,05$). Por

otra parte, los portadores del alelo G (genotipos A/G y G/G) presentaron un promedio en sus niveles de HDL (42,21 mg/dL) menor que el de los no portadores; la media de HDL en mujeres portadoras (42,62 mg/dL) nuevamente fue mayor que la de los hombres (40,20 mg/dL), pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p = 0,636$; $p \leq 0,05$).

Figura 8. Distribución de niveles de HDL en los individuos clasificados como portadores/no portadores del alelo G.



La Figura 8 ilustra la variación de los promedios de HDL entre portadores (42,21 mg/dL) y no portadores del alelo G (43,82 mg/dL) sin diferenciar por sexo. A pesar de que la diferencia no fue estadísticamente significativa, en el gráfico se observa que los individuos portadores del alelo G presentan niveles menores de HDL que los no portadores.

Los datos que siguen a continuación presentan la proporción de los individuos que fueron evaluados en relación a su condición de portadores del alelo G y su

clasificación dentro del grupo HDL-bajo o HDL-normal/ideal (Tabla 9); con esto se espera observar la posibilidad que el portar el alelo G implique un factor de riesgo para presentar un valor de colesterol HDL clasificable como bajo y poco saludable.

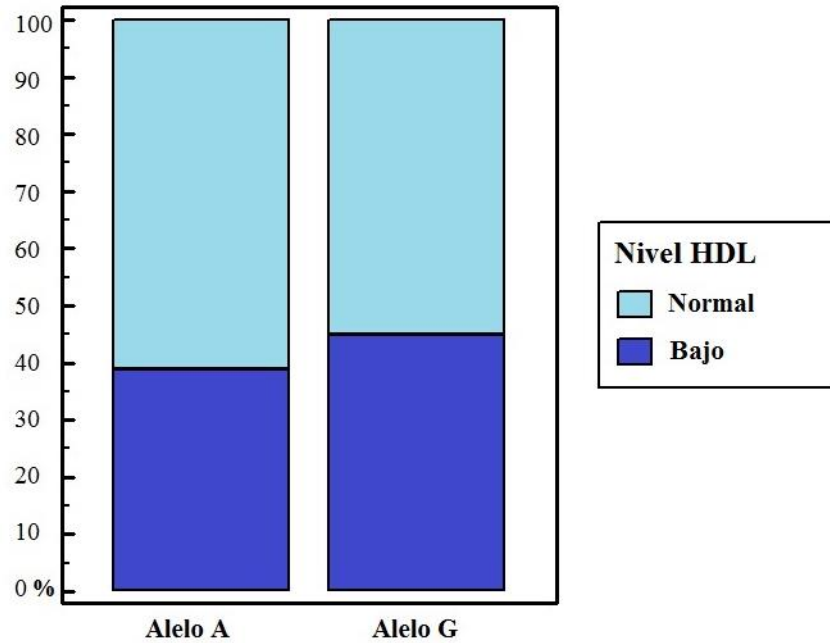
Tabla 9. Proporción de individuos en cada grupo de HDL según su condición de ser portador o no del alelo de riesgo (G).

	Alelo G n (%)	Alelo A n (%)	Total n (%)
HDL-bajo (≤ 39 mg/dL)	13 (44,82)	33 (38,82)	46 (40,4)
HDL-normal/ideal (≥ 40 mg/dL)	16 (55,17)	52 (61,17)	68 (59,6)
Total	29 (25,4)	85 (74,6)	114

OR = 1,28 / p = 0,569 p = 0,662329369

De los 114 individuos que conformaron el grupo de estudio, 29 resultaron portadores de al menos 1 copia del alelo G, de los cuales 13 (44,82%) presentaron HDL bajo. En el grupo de no portadores (homocigotos A/A), 33 sujetos (38,82%) presentaron HDL bajo. De acuerdo al valor de OR (*odds ratio* o razón de momios) que se observa en la tabla, la razón entre la presencia de HDL-bajo versus la de HDL-normal es 1,28 veces mayor en los sujetos portadores del alelo G que en los portadores del alelo A. A pesar de que esta diferencia no tiene un valor significativo, dichos resultados permiten observar que es más probable presentar un nivel de HDL bajo si se posee al menos 1 copia del alelo G en comparación con los no portadores; esta observación se aprecia mejor en la figura 9.

Figura 9. Proporción de individuos en cada grupo de HDL según presencia de los alelos.



En resumen, en las descripciones anteriores se consigue en primer lugar la observación de que casi la mitad de la muestra de estudio (40,35%) presentó niveles de HDL que se clasifican dentro del rango poco saludable. Además de esto, las mujeres de la muestra siempre presentaron niveles más elevados de HDL en comparación con los hombres, inclusive cuando se estableció esta comparación dentro de los individuos con genotipo A/A. En cuanto a la relación “alelo G – HDL” de interés en este estudio, se observó que los sujetos portadores de la variante presentaron niveles más bajos de HDL que los no portadores; así mismo, se pudo vislumbrar la posibilidad de que el portar al menos 1 copia del alelo G implique un riesgo mayor a presentar HDL bajo.

5. DISCUSIÓN

Con el fin de dar cumplimiento a los objetivos planteados, se han analizado los resultados producto del trabajo de laboratorio con el polimorfismo rs9282541 en warao en conjunto con los datos reportados para otras poblaciones respecto a dicha variante (junto al sistema económico y ubicación geográfica), así como los niveles de colesterol HDL y la información existente sobre la etnia warao en cuanto a su estilo de vida y su estado de salud cardio-metabólico. Dicha información fue utilizada para interpretar aquellas variables que describen la estructura genética poblacional de los warao en relación a otros grupos indígenas y su probable efecto en el fenotipo bioquímico (niveles de HDL).

5.1. Distribución del rs9282541 en los warao y otros grupos amerindios

Según Hünemeier et al. (2012), la frecuencia del polimorfismo rs9282541 entre las poblaciones portadoras oscila entre el 2% y el 33% (Tabla 4). Comparando dichos resultados con los de este estudio, la frecuencia obtenida para los warao (230C = 13,05%) se ubica en niveles intermedios dentro de las reportadas para el resto de los amerindios (Tabla 4).

De acuerdo con Acuña-Alonso et al. (2010) y Hünemeier et al. (2012), esta variante funcional del gen *ABCA1* surgió hace unos 7.540 años en el continente americano y hasta la actualidad únicamente se ha encontrado presente en sujetos de herencia nativa americana; ambos hechos han permitido su empleo como marcador de origen amerindio. El promedio entre las frecuencias alélicas de las poblaciones

portadoras es del 12%; estas se distribuyen de forma tal que en la región centro-sur del continente se localizan tanto las frecuencias más altas como la mayor cantidad de poblaciones portadoras, pero hacia latitudes superiores se consiguen las frecuencias más bajas junto con una mayor cantidad de poblaciones no portadoras del polimorfismo. Esta distribución geográfica del polimorfismo rs9282541 se ha considerado como sugerente a la posibilidad de un proceso de selección direccional relacionado al ambiente cuya acción haya ocasionado dicho fenómeno.

Dentro del contexto de la hipótesis de Neel (sobre el genotipo ahorrador, 1962) los portadores del R230C de hace unos 7.000 años se habrían visto favorecidos por una ventaja selectiva; la falla ocasionada por la acción de esta variante del gen *ABCA1* en el transporte reverso del colesterol y, por consiguiente, en la conformación de la molécula de HDL habría provocado un incremento en los niveles de colesterol intracelular y en el almacén del mismo en forma de energía lo cual habría resultado beneficioso para estos grupos humanos bajo las condiciones ambientales de la época como recursos escasos y sujetos a cambios estacionales (Acuña-Alonso et al., 2010; Hünemeier et al., 2012).

Ahora bien, dos eventos sucedieron coincidentemente de forma simultánea en el continente americano: el surgimiento de esta variante (7.000 AP) y el del maíz como cultivo (México entre 6.300-10.000 AP). Hünemeier et al. (2012) analizaron el proceso de expansión de la domesticación del maíz y el de la expansión del 230C entre las poblaciones amerindias y establecieron relaciones; lo que propusieron es que mediante una co-evolución gen-cultura, el proceso de domesticación del maíz,

sumado a los períodos de escasez de recursos y el entonces beneficioso 230C que portaban algunos individuos, habría sido la fuerza impulsora para el incremento de las frecuencias del rs9282541 en la región central del continente, así como su dispersión hacia el sur. En el presente se observa que tanto las frecuencias más altas como la mayor cantidad de poblaciones portadoras se ubican precisamente en Centroamérica, donde las sociedades son en su mayoría agricultoras y entre sus cultivos principales destaca el maíz.

La co-evolución gen-cultura maneja la idea de que en la medida en que el humano ha alterado el entorno con sus prácticas culturales (en este caso el cultivo y consumo del maíz), también ha debido modificar su propio comportamiento para el adecuado aprovechamiento del ambiente y, simultáneamente, esto ha estado acompañado de rápidos y sustanciales cambios genómicos asociados con selección positiva o selección direccional y adaptación (R230C). Entonces, el proceso de expansión de la domesticación y consumo del maíz, coincidentemente y de forma azarosa, habría colaborado en el incremento de la cantidad de individuos portadores de la variante 230C; y como esta actividad era practicada en un principio por las sociedades precolombinas agricultoras de Mesoamérica, dichos grupos presentarían las frecuencias más altas para el polimorfismo (Hünemeier et al., 2012).

Sin embargo, actualmente las frecuencias altas se observan tanto en poblaciones agricultoras de Mesoamérica como en cazadores-recolectores de Suramérica (tabla 4), ante lo cual Hünemeier et al. (2012) explican que la mayor diversidad en cuanto a hábitats, poblaciones y culturas de Suramérica en comparación

con Mesoamérica, así como los bajos niveles de flujo génico entre poblados y los reducidos tamaños de población efectiva, favorecieron el rol de la deriva génica como fuerza evolutiva impulsora de las frecuencias del rs9282541 en los grupos suramericanos. Esto podría explicar el porqué de la frecuencia observada en los warao, siendo éste un grupo de cazadores-recolectores por tradición y habitantes de Suramérica.

Ahora bien, partiendo del supuesto de un origen único y la posterior dispersión de esa variante para observar las posibles relaciones entre los warao y otros amerindios no sólo se tomó la frecuencia del alelo 230C, también se tomaron en consideración las variables establecidas por Hünemeier et al. (2012) al clasificar a las poblaciones de su estudio según la ubicación geográfica y el sistema de subsistencia: agricultura o caza-recolección, sino también otra de suma importancia como es la filiación lingüística. Un sitio de residencia cercano o que se pueda relacionar con rutas migratorias empleadas por los warao podría sugerir flujo génico entre poblaciones, el sistema de subsistencia podría apuntar a factores que favorezcan la frecuencia de la variante, y la filiación lingüística podría indicar un origen en común entre los grupos.

En cuanto a los datos reportados para los amerindios portadores del polimorfismo rs9282541, se observa que las frecuencias más elevadas se han identificado, hasta los momentos, en los cazadores-recolectores palikur (Guyana Francesa) y xavante (centro de Brasil), pero también hacia el centro del continente con los agricultores cora y zapoteca (México). En palikur y xavante estos resultados

podrían ser consecuencia de la acción de la deriva génica, mientras que en cora y zapoteca estaría actuando la co-evolución gen-cultura descrita por Hünemeier et al. (2012).

En una primera observación, de entre los valores de frecuencia alélica reportados, resultan más similares a warao los de totonaco (13%, México), satere-mawé, yanomami y kuben kran keng (12%, Brasil), y gorotire (14%, Brasil). En términos geográficos, de estos grupos el más cercano a los warao son los yanomami, habitan la frontera entre Venezuela y Brasil, sin embargo, los grupos brasileños residen al norte del Amazonas.

En relación a las distancias representadas en el dendrograma, en este estudio se observó una relación ausente o bastante lejana de los warao con las 8 poblaciones ubicadas en la ramificación superior del dendrograma, la mitad de éstas ubicadas al centro y noroeste de México mientras que la otra mitad residen en el centro y la frontera norte de Brasil, y en Guyana Francesa; todas presentan las frecuencias alélicas más altas identificadas hasta los momentos, así como los valores de distancia F_{st} con warao más elevados. Hacia el extremo opuesto de la ramificación inferior se consiguen los mekranoti y los guaraní, quienes poseen las frecuencias alélicas más bajas identificadas (2%) y se ubican al centro y sur de la Amazonía brasilera; los mekranoti son hablantes de Kayapó (familia lingüística Jê), los guaraní pertenecen a la familia lingüística proto-Tupí. Éstos se vieron agrupados en el dendrograma con poblaciones muy poco relacionadas entre sí (agrupamiento que inicia con los mazahua y los parkateje, y culmina con los mekranoti y los guaraní) y cuyas

distancias Fst no permiten relacionarlos con los warao (Dixon y Aikhenvald, 2006; Acuña-Alonso et al., 2010; Hünemeier et al., 2012).

De entre las poblaciones andinas se observaron distancias pequeñas entre warao y hulleche e ingano, y curiosamente no se observaron diferencias estadísticamente significativas con las cuatro poblaciones de este conjunto, lo que podría indicar que los warao se están ‘comportando’ de forma similar a dichas etnias; sin embargo, al dirigir la atención al dendrograma donde se relacionan con las otras 33 poblaciones, se observa que los andinos y warao efectivamente no se comportan como un aglutinamiento y se encuentran claramente diferenciadas entre sí.

Una de las etnias que presentó una distancia génica bastante estrecha con warao fue los totonaco [-0.00438], quienes residen en la zona central de México, pertenecen a la familia lingüística Totonaco-Tepehua y practican la agricultura, de la que su cultivo principal es el maíz; el parentesco con este grupo no parece algo probable, sin embargo, la similitud entre su estructura genética y la de los warao puede encontrar explicación en la acción de procesos evolutivos similares en ambas etnias (Masferrer, 2006; Suárez, 2007).

Es interesante cómo una de las distancias génicas más estrechas observadas la presentó tirió [-0,00030], quienes integran la rama guyanesa de la familia lingüística Caribe (residen en la frontera Brasil-Surinam y son cazadores-recolectores), pero éstos se ubicaron a una distancia considerable de los warao al momento de construir el dendrograma (con 10 sociedades de por medio), donde se presentan como más

cercanos a grupos agricultores como los ingano (occidente de Colombia), los otomíes y mazahua (México) (Dixon y Aikhenvald, 2006; Acuña-Alonso et al., 2010; Hünemeier et al., 2012).

La distancia génica tan estrecha de los cabecar [-0.00957] y los guaymí [-0.00873] (Costa Rica y Panamá), podría aportar más valor a la propuesta de un origen proto-Chibcha para los warao. Además de ellos, los satere-mawé, kuben kran keng, gorotire y yanomami son otras de las etnias cuyas distancias génicas indicaron cercanía con warao. De este grupo los yanomami son los únicos que posiblemente presentan otras similitudes puntuales con warao, son de filiación lingüística independiente (no existe un consenso definitivo sobre si es una lengua aislada o de filiación proto-Chibcha, tal y como sucede con los warao) y los que residen más cerca. Esta etnia habita la Amazonía en la frontera Venezuela-Brasil a una distancia geográfica del delta del Orinoco lo suficientemente extensa como para considerar que la única forma posible de un antiguo intercambio cultural y el consiguiente flujo génico con los warao sería si efectivamente ambos comparten un origen proto-Chibcha, o si compartieron un espacio en conjunto en algún punto de su ruta migratoria hasta sus lugares de residencia actuales (Teixeira, 2005; Dixon y Aikhenvald, 2006; Lizot y Kelly, 2007; Acuña-Alonso et al., 2010; Nava, 2012; Hünemeier et al., 2012).

Teniendo en cuenta la complejidad de los patrones de migración de un grupo humano y el hecho de que responden a infinidad de factores, es probable, tal y como lo indica la literatura, que antepasados de los warao contemporáneos se encontraran

habitando y/o migrando en la región de Centroamérica hace más de 8.000 años (específicamente en el istmo de Panamá), durante su recorrido migratorio hacia la costa atlántica al oriente de Venezuela. Si bien en este período y región pudieron compartir con poblaciones proto-Chibcha (como los cabecar y los guaymí, y posiblemente yanomami y barí), no se puede descartar un origen común y remoto entre los warao y otras poblaciones como tiriyo, satere-mawe, kuben kran keng y gorotire. La interrogante sería respecto a la posibilidad que de dicha situación resultara la inserción del 230C en la estructura genética de los warao actuales (Iglesias y Culebras, 2005; Dixon y Aikhenvald, 2006; Suárez, 2007; Wilbert y Ayala, 2007; Heinen, 2011; Velásquez et al., 2011; Nava, 2012).

La edad estimada para el alelo 230C (7.540 AP) coincide con el período de asentamiento de los warao en el delta del río Orinoco propuesto para hace unos 7.000-8.000 años; sin embargo, es importante destacar que estas fechas ciertamente son estimados que presentan márgenes de error a tomar en cuenta y no se han considerado como absolutas. En vista de que se requiere de un período de tiempo considerable para que una mutación nueva se haga frecuente y se ‘disemine’, la coincidencia de estas fechas implicaría bien que la variante llegó a población warao luego de su asentamiento en los caños que actualmente habita o que pudiera deberse al previamente mencionado posible origen común y remoto entre los warao y otros grupos (Wilbert y Ayala, 2007; Hünemeier et al., 2012).

Para abordar la idea del contacto con poblaciones contemporáneas a los warao y residentes de la misma región, se consigue una gran cantidad de estudios que

emplean distintos polimorfismos con este propósito. En estudios genéticos en poblaciones de lengua Chibcha, los dendrogramas ubican a los warao como distanciados del resto de las poblaciones (incluyendo a los yanomami, barí, cabecar y guaymi) (Layrisse et al., 1992). Con los amerindios venezolanos se observan resultados diferentes dependiendo de la etnia a relacionar con warao, fenómeno que también depende del marcador que se decida evaluar; diferencias observadas en el estudio de varios STR por separado entre barí, yukpa, wayuú y warao, parecieran ser indicio de una evolución local independiente (posterior al ingreso de estos grupos en territorio venezolano) que resultase del patrón de asentamiento particular de cada una de las etnias de familias lingüísticas diferentes. En el caso de los warao, el desarrollo cultural independiente pudo influir en dichas distinciones, lo que puede explicarse debido al distanciamiento geográfico evidente (Lugo, 2013). Sería necesario el estudio del rs9282541 en éstas y otras poblaciones del territorio venezolano para poder establecer relaciones que aporten mayor información al ingreso de la variante en los warao en el período posterior a su asentamiento en el occidente del país.

Por otro lado, la información histórica establece que los Arawak penetraron, según la teoría antropológica de Osgood, por el istmo centroamericano de Panamá al igual que los proto-Chibcha; los primeros se expandieron al norte del Estado Falcón en la península de Paraguaná y algunos proto-Chibcha (como los warao) se expandieron hasta el extremo oriental del territorio venezolano. Es posible que antes de colonizar el territorio venezolano, los warao hayan compartido en algún momento vínculos culturales y biológicos con estos grupos. Sin embargo, en el período

precolombino posterior a estos eventos, la probabilidad de una relación con Arawak y Caribe de la región, por cercana que fuera, no debió suponer mayor impacto para los warao, quienes posiblemente convivieran multiétnica y pacíficamente con los otros (Salazar y Vargas, 1992; Vargas y Sanoja, 1992; Layrisse et al., 1992; Wilbert y Ayala, 2007; Heinen, 2011; Nava, 2012).

Retomando la frecuencia del 230C observada en los warao, este grupo podría insertarse en el conjunto de cazadores-recolectores habitantes de Suramérica. Hünemeier et al. (2012) observaron que esta región geográfica presenta, al ser comparada con Mesoamérica, una mayor diversidad en cuanto a los eco-ambientes habitados, sus pobladores humanos y las características socio-culturales que los modelan, de manera que las frecuencias del polimorfismo halladas en esta región no se pueden explicar con los procesos que enlazan su distribución a la cría del maíz, sino que pudieran tener su origen en la poca variabilidad genética intra-poblacional que presentan estas etnias, debido a su aislamiento en la selva amazónica y al tamaño reducido de sus comunidades, y por consiguiente al trabajo de la deriva génica (Acuña-Alonso et al, 2010; Hünemeier et al, 2012).

Entonces, siendo los warao actualmente una etnia compuesta principalmente por poblaciones de pequeño tamaño (con tradición de caza y recolección, como la mayoría de los grupos suramericanos con presencia del polimorfismo), y en tal aislamiento geográfico y cultural, es posible que una frecuencia del 13,05% para este polimorfismo se deba a la acción en conjunto de la prolongada práctica de la endogamia y consanguinidad que los caracteriza y a fuerzas como la deriva génica; la

cual, de forma paulatina y durante un período de tiempo considerable, pudiera estar obrando en un incremento en la cantidad de individuos warao portadores de ésta variante (Suárez, 1972; Heinen, 2011; Wilbert y Ayala, 2011; INE, 2011; Nava, 2012).

5.2. Análisis para la caracterización fenotípica de los warao mediante el colesterol HDL y su relación con el rs9282541

Se sabe que la variación de los niveles de colesterol en sangre está determinada genéticamente hasta en un 60%, y hasta el momento se conocen más de 50 genes diferentes cuya acción se centra específicamente en el metabolismo de las moléculas de HDL o “colesterol bueno”; entre los mejor estudiados destacan el *ABCA1*, *APOA1*, *LCAT*, *CETP*, *LIPC*, *LPL* y *PONI*. Ahora bien, los niveles de HDL en un individuo también se rigen por otros factores como los hábitos alimentarios y el estilo de vida. En un individuo cualquiera, sin importar su estado de salud, estos niveles variarán en la medida en la que él vea modificadas sus rutinas y su alimentación (por ejemplo, si inicia una rutina de actividad física determinada o culmina con una a la que su cuerpo estaba acostumbrado), pero también por el cómo esta situación engrana con su conformación genética como individuo (Villarreal-Molina, 2008).

Pero, ¿cómo se aborda esta situación cuando no se trata de un individuo sino de una población? Desde el punto de vista de la salud pública, los rasgos que comparten los individuos de una población específica (variables como sus

características culturales, el ambiente y su estructura genética) deben ser tomadas en cuenta para vislumbrar las causas de una problemática de salud presente. Si se parte de la idea de que la relación entre el estilo de vida tradicional de una sociedad específica y su estructura genética es (por lo general) beneficiosa para su estado de salud, una posible causa que individuos de dicha población vean desmejorada su salud pudiera ser la acción de procesos de aculturación que ocasionarían un estado de vulnerabilidad en su estado de salud actual; la teoría del genotipo ahorrador podría dar respuesta a este fenómeno que actualmente se ha observado en poblaciones amerindias (Neel, 1962; Villarreal-Molina, 2008; Chacín et al., 2011; Valenzuela, 2011).

Ejemplo de ello son los warao, quienes en un par de siglos han visto por completo modificados su estilo de vida y sus patrones alimentarios (tanto lo que comen como la forma en que lo comen), lo cual, junto a la frecuencia del rs9282541, podría explicar la aparición de niveles bajos de colesterol HDL, niveles elevados de triglicéridos y glicemia en sangre, obesidad abdominal, tensión arterial elevada y síndrome metabólico ya reportados dentro de sus comunidades (Case et al., 2006; Chacín et al., 2011; Lares et al., 2011; Valenzuela, 2011; Hünemeier et al., 2012; González, 2012; Rosas, 2012; Brito et al., 2013).

Considerando la relación reportada en estudios previos sobre el efecto del polimorfismo rs9282541 del gen *ABCA1* sobre el perfil lipídico (específicamente el colesterol HDL), se requirió analizar si en la muestra de estudio de la presente investigación dicha “falla” en la codificación de la proteína efectivamente se

encuentra afectando de forma negativa los niveles de colesterol HDL en sangre de la muestra poblacional warao (Marcil et al., 1999; Rust et al., 1999; Wang et al., 2000; Villarreal-Molina et al., 2007; Villarreal-Molina, 2007; Villarreal-Molina, 2008; Flores-Dorantes et al., 2010; Aguilar-Salinas et al., 2011; Hünemeier et al, 2012).

Los resultados indican que casi la mitad de la muestra de estudio (40,35%) presentó niveles de colesterol HDL menores a los 39 mg/dL, lo que se corresponde con lo reportado para esta etnia en estudios previos (Brito et al., 2013; Case et al., 2006; Lares et al., 2011; Rosas, 2012; González, 2012). De acuerdo al Programa Nacional para la Educación sobre el Colesterol (NCEP, 2001), estos valores indican un estado de salud deteriorado en la población, situación que debe tener un origen multifactorial. Si bien, la sociedad warao no representa un ente pasivo frente a las fuerzas aculturativas, tal y como lo indican Wilbert y Ayala (2007), el proceso de aceptación e integración de rasgos del estilo de vida criollo dentro del paradigma cultural tradicional warao (el cambio en sus patrones alimentarios y de asentamiento, de semi-nómada a sedentario), han afectado de forma negativa el estado de salud de la sociedad warao, situación de la que se tiene registro desde hace apenas unas décadas (Heinen, 2011; Wilbert y Ayala, 2011; Nava, 2012).

En este estudio se encontró que existe una relación entre la presencia de niveles bajos de HDL y el hecho de portar el alelo 230C (alelo G); si bien los resultados no son estadísticamente significativos, sí se observó con claridad la relación entre ambos factores. Esto permite añadir a las causas del padecimiento de dislipidemia en los warao una predisposición genética previamente reportada para los

portadores de dicha variante, la cual indica que el portar al menos 1 copia de este alelo implica una disminución de hasta el 27% en el transporte reverso del colesterol y, por consiguiente, en la producción de moléculas de HDL, tan necesarias para la disminución de los perjudiciales depósitos de colesterol LDL tanto en las arterias como en diversos órganos (Villarreal-Molina et al., 2008; Acuña-Alonso et al., 2010; Hünemeier et al., 2012).

Además, se encontró de forma específica una diferencia en niveles de colesterol HDL entre el grupo de sexo masculino y el de sexo femenino, los resultados parecieran indicar que las mujeres del grupo se encuentran más saludables que los hombres en términos bioquímicos, información que se corresponde a lo reportado en otros estudios como el CARMELA, donde se indica una diferenciación para Latinoamérica en la prevalencia de dislipidemia entre hombres y mujeres del 75,5% y 48,7%, respectivamente (Pramparo et al., 2011).

Por supuesto, como se mencionó al principio, existen muchos genes encargados de distintas funciones en el ciclo del HDL, cuyas variantes podrían estar actuando sobre esta población; sin embargo, es el rs9282541 el que ha sido identificado como variante exclusiva de poblaciones amerindias. Si bien, otras variantes tanto del *ABCA1* como de otros genes podrían estar actuando sobre los niveles de colesterol de los warao, el R230C es ya reconocido por su alta incidencia en amerindios y su asociación de manera significativa tanto a niveles bajos de HDL en amerindios como a obesidad, síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 2 (Villarreal-Molina et al., 2008; Acuña-Alonso et al., 2010; Hünemeier et al., 2012).

A pesar de los limitados tamaños de los grupos que resultaron de las diferentes clasificaciones para las comparaciones estadísticas, lo anterior parece sugerir que efectivamente los warao son una población con una problemática de salud metabólica evidenciada (hasta los momentos) por una frecuencia nada despreciable de portadores del polimorfismo rs9282541 con niveles bajos de colesterol HDL. Además, el estudio demostró la importancia de evaluar conjuntamente aspectos genéticos-evolutivos, estado de salud y rasgos culturales y de estilo de vida en poblaciones aisladas o nativas con problemáticas de salud evidenciadas.

6. CONCLUSIONES

1.- El estudio del polimorfismo rs9282541 en la población warao dio como resultado una frecuencia alélica del 13,05%, siendo, posiblemente, la acción en conjunto de la deriva génica, en la forma del efecto fundador, el prolongado aislamiento y una práctica de la endogamia y consanguinidad inherente a su cultura, las causas de dicho valor.

2.- Las distancias genéticas entre la etnia warao y las 37 etnias amerindias portadoras del polimorfismo permitieron establecer semejanzas con poblaciones proto-Chibcha habitantes del istmo de Panamá y otros cazadores-recolectores del norte del Amazonas como los yanomami, tiriyo, satere-mawé, kuben kran keng y gorotire.

3.- La información histórica revisada del grupo warao se complementa con los datos genéticos para reflejar las rutas migratorias propuestas para los grupos amerindios del territorio venezolano, así como de la relación cultural y biológica propuesta entre los warao y los Chibcha.

4.- Los resultados sobre los fenotipos bioquímicos señalaron que el 40,35% de la muestra de estudio warao presenta niveles bajos de colesterol HDL (33,3mg/dL), lo que indica un estado de salud deteriorado en la población y se corresponde con lo reportado para esta etnia en estudios previos.

5.- El estudio en conjunto del polimorfismo rs9282541 y los niveles de colesterol HDL, permitió establecer una relación entre la presencia de niveles bajos de HDL y el hecho de portar el alelo 230C (alelo G), lo que añade a las causas del padecimiento de dislipidemia en los warao una predisposición genética para los portadores de dicha variante.

6.- Los niveles bajos de colesterol HDL tienen un origen multifactorial que en el caso de la población warao incluye aspectos genéticos, y la integración del estilo de vida criollo a su rutina, lo cual va desde la adopción de sus patrones alimentarios como la ingesta de una cantidad elevada de productos industrializados altos en carbohidratos simples y grasas, pero bajos en proteínas y fibra, hasta el patrón de asentamiento netamente sedentario; esto ha afectado de forma negativa su estado de salud.

7.- Los resultados obtenidos en esta investigación dan cuenta de la importancia de este tipo de estudios para dar a conocer los procesos evolutivos y culturales que influyen en la caracterización genética de los grupos indígenas, así como su estado de salud; su propósito es el de establecer posibles diferencias y semejanzas entre poblaciones, y son de gran utilidad para esclarecer las causas de ciertas problemáticas en salud pública.

8.- Se sugiere mantener el estudio de este polimorfismo en la población warao en conjunto con otras variables de importancia como mediciones antropométricas y datos sobre estilo de vida y patrones alimentarios.

9.- Es ideal mantener la investigación en genética y salud pública activa tanto en los grupos warao como en el resto de las poblaciones amerindias dentro del territorio nacional, para una mejor comprensión de los patrones poblacionales de salud.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuña-Alonzo, V., Flores-Dorantes, T., Kruit, J., Villarreal-Molina, T., Arellano-Campos, O., Hünemeier, T., ... y Cañizales-Quintero, S. (2010). *A functional ABCA1 gene variant is associated with low HDL-cholesterol levels and shows evidence of positive selection in Native Americans*. Human Molecular Genetics, 19(14):2877-85.
- Aguilar-Salinas, C., Cañizales-Quinteros, S., Rojas-Martínez, R., Roopa Mehtaa, Villarreal-Molina, M., Arellano-Campos, O., ... y Tusié-Luna, M. (2009). *Hypoalphalipoproteinemia in populations of Native American ancestry: an opportunity to assess the interaction of genes and the environment*. Current opinion in lipidology, 20:92-97.
- Aguilar-Salinas, C., Cañizales-Quinteros, S., Rojas-Martínez, R., Roopa Mehtaa, Rodríguez-Guillén, R., Ordoñez-Sánchez, M., ... y Tusié-Luna, M. (2011). *The non-synonymous Arg230Cys variant (R230C) of the ATP-binding cassette transporter A1 is associated with low HDL cholesterol concentrations in Mexican adults: A population based nationwide study*. Atherosclerosis, 216: 146-150.
- Albrecht, C. y Viturro, E. (2007). *The ABCA subfamily-gene and protein structures, functions and associated hereditary diseases*. Pflugers Arch, 453(5): 581-9.
- Almanza-Pérez, J., Blancas Flores, G., García-Macedo, R., Alarcón-Aguilar, F. y Cruz, M. (2008). *Leptina y su relación con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2*. Gaceta Médica de México, 144(6): 535-542.
- Aponte, C. (2008). *El tiempo, los genes y la historia*. Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Breves en Ciencia y Tecnología, 39(2): 59-62.
- Arends, T. (1992). *Estructura genética de la población indígena de Venezuela*. Universidad de las Naciones Unidas. Caracas.
- Arias, F. (1999). *El proyecto de investigación. Guía para su elaboración*. 3ra edición. Editorial Episteme. Caracas.
- Bortolini, M.C., Salzano, F., Thomas, M., Stuart, S., Nasanen, S., Bau, C., ... y Ruiz-Linares, A. (2003). *Y-Chromosome Evidence for Differing Ancient Demographic Histories in the Americas*. American Journal of Human Genetics, 73:524-539.
- Brito, N., Córcega, A., Marín, M., Bognanno, J., Alcázar, R., y Pérez, K. (2013). *Frecuencia de síndrome metabólico en indígenas de la etnia warao de*

- Barrancas del Orinoco, estado Monagas.* Venezuela. Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo, 11(3):128-140.
- Brunham, L., Kruit, J., Iqbal, J., Fievet, C., Timmins, J., Pape, T., ... y Hayden, M. (2006). *Intestinal ABCA1 directly contributes to HDL biogenesis in vivo.* Journal of Clinical Investigation, 116(4): 1052-62.
- Cabrero, J. y Camacho, J.P. (2002). *Fundamentos de Genética de Poblaciones.* En: Soler M. (Ed.) EVOLUCIÓN. La base de la biología, pp.83-126. Proyecto Sur de Ediciones, S.L.
- Case, C., Palma, A., Brito, S., Lares, M., y Pérez, E. (2006). *Factores de riesgo asociados a diabetes Mellitus tipo 2 en indios waraos del Delta Amacuro, Venezuela.* Interciencia, Vol.31(4). URL http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-18442006000400012&script=sci_arttext
- Castro de Guerra, D., y Vivenes de Lugo, M. (2012). *Estudio de polimorfismos moleculares de interés en genética de poblaciones, salud pública y farmacogenética, en indígenas venezolanos.* Primera etapa: Estudio en los warao. Proyecto de investigación interinstitucional IVIC- UDO, DIR-0575/1512/2014.
- Cavalli-Sforza, L., y Bodmer, W. (1981). *Genética de las poblaciones humanas.* Ediciones Omega.
- Centro de Investigación Social CISOR (2008). *Condiciones de vida de los warao del Delta Amacuro. Informe final.* Línea base, proyecto CHV-EFM 11.
- Chacín, M., Rojas, J., Pineda, C., Rodríguez, D., Núñez, M., Márquez, M., ... y Bermúdez, V. (2011). *Predisposición humana a la obesidad, síndrome Metabólico y diabetes: El genotipo ahorrador y la incorporación de los diabetogenes al genoma humano desde la Antropología Biológica.* Síndrome Cardiometabólico, 1(1). Caracas, Venezuela.
- Clee, S., Zwinderman, A., Engert, J., Zwarts, K., Molhuizen, H., Roomp, K., ... y Hayden, M. (2001). *Common Genetic Variation in ABCA1 Is Associated with Altered Lipoprotein Levels and a Modified Risk for Coronary Artery Disease.* Circulation. Journal of the American Heart Association. URL <http://circ.ahajournals.org/content/103/9/1198>
- Costa, J. (2004). *Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real.* Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 22(5): 299-305.
- Corella, D., Sorli, J.V., Coltell, O., Ortega-Azorín, C., Carrasco, P., Quiles, L., ... y Ordovás, J.M. (2014). *Adherence to the mediterranean diet modulates the*

association between the ABCA1 gene, plasma lipids and diabetes in a high-risk population. Atherosclerosis 235, e84–e191.

- Curtis, H., y Schnek, A. (2006). *Invitación a la biología*. Ed. Médica Panamericana.
- Damaskos, D., Kolovou, V., Kostakou, P., Anagnostopoulou, K., Mihas, K., Diakoumakou, O., ... y Kolovou, G. (2014). *Correlation between metabolic syndrome criteria and polymorphisms concerning lipid metabolism, hypertension and vascular disease. Atherosclerosis*, 235, e84–e191.
- Dixon, R. y Aikhenvald, A. (2006). *The amazonian languages*. Cambridge Languages Surveys. Cambridge University Press.
- Dobzhansky, T., Ayala, F., Stebbins, G., y Valentine, J. (1980). *Evolución*. Ediciones Omega S.A. Barcelona.
- Doval, H. (2005). *La selección genética programó nuestra alimentación ¿Deberíamos volver a la dieta del paleolítico?*. Revista argentina de cardiología, 73(3):244-248. Sociedad Argentina de Cardiología. Buenos Aires, Argentina.
- Dumitrescu, L., Carty, C.L., Taylor, K., Schumacher, F.R., Hindorff, L.A., ... y Crawford D.C. (2011) *Genetic Determinants of Lipid Traits in Diverse Populations from the Population Architecture using Genomics and Epidemiology (PAGE) Study*. PLoS Genet 7(6): e1002138. doi:10.1371/journal.pgen.1002138
- Eguarte, L., Aguirre-Liguori, J., y Jardón-Barbolla, L. (2013). *Genómica de poblaciones: nada en evolución va a tener sentido si no es a la luz de la genómica, y nada en genómica tendrá sentido si no es a la luz de la evolución*. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 16(1):42-56.
- Excoffier, L., Aguirre-Planter, E., Laval, G., y Schneider, S. (2005). *Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis*. Evolutionary Bioinformatics Online, I;47-50.
- Felsenstein, J. (2004). *PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6*. Distributed by the author. Department of Genomic Sciences, University of Washington, Seattle, WA.
- Flores-Dorantes, T., Arellano-Campos, O., Posadas-Sánchez, R., Villarreal-Molina, M., Medina-Urrutia, A., Romero-Hidalgo, S., ... y Cañizales-Quinteros, S. (2010). *Association of R230C ABCA1 gene variant with low HDL-c levels and abnormal HDL subclass distribution in Mexican school-aged children*. Clinica Chimica, Acta 411: 1214-1217.

- Frikke-Schmidt, R., Nordestgaard, B.G., Jensen, G.B., y Tybjaerg-Hansen (2004). *Genetic variation in ABC transporter A1 contributes to HDL cholesterol in the general population*. American Journal of Clinical Investigation, 114:1343-1353
- GeneCards: The Human Gene Database (2017). *ABCA1 Gene (Protein Coding) ATP Binding Cassette Subfamily A Member 1*. Copyright © 1996-2017, Weizmann Institute of Science. All Rights Reserved. v4.6.0 Build 18. URL <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ABCA1>
- González, E. (2012). *Evaluación nutricional en indígenas adultos de la etnia warao que habitan en el municipio Tucupita, estado Delta Amacuro*. Trabajo especial de grado para optar a la licenciatura en Bioanálisis. Universidad de Oriente. Venezuela.
- González, M., Chillón, M.C., García-Sanz, R., López-Pérez, R., Balanzategui, A., González, D., ... y San Miguel, J.F. (2001). *Reacción en cadena de polimerasa cuantitativa en tiempo real. Detección de la enfermedad residual mínima en hemopatías malignas*. Servicio de hematología-hemoterapia. Hospital clínico universitario. Salamanca. En: Programa educacional. Hematológica (ed. esp.), vol.86, supl.1, octubre. Brunet, S. y González Boullosa, R., coordinadores.
- Greenberg, J. (1960). *Tentative linguistic classification of Central and South America. Natives peoples of south America*. Editorial Julian Steward and Louis Faraon. New York.
- Griffiths, A.J., Wessler, S.R., Lewontin, R.C., y Carroll, S.B. (2008). *Genética*. 9na edición. McGraw-Hill-Interamericana.
- Heinen, D. (2011). *Los warao*. En: Los Aborígenes de Venezuela; vol.3: 967-1113. Jacques Lizot, editor. 2da edición. Fundación La Salle. Caracas, Venezuela.
- Herráez-Sánchez, A. (2012). *Biología molecular e ingeniería genética*. Editorial Elsevier Science. Madrid, España.
- Hünemeier, T., Guerra, C., Azevedo, S., Contini, V., Acuña-Alonso, V., Rothhammer, F., ... y Bortolini, M. (2012). *Evolutionary responses to a constructed niche: Ancient mesoamericans as a model of gene-culture coevolution*. Revista en línea PLoS ONE; 7(6): e38862. URL <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0038862>
- Iglesias, J. y Culebras, M. (2005). *La Conquista: Indígenas Panameños; Los Guaymíes*. Editorial Club Universitario. España. URL <http://www.editorial-club-universitario.es/pdf/534.pdf>

- Instituto Nacional de Estadística (2011). *Primeros resultados de Población indígena*. Censo Nacional de población y vivienda 2011. Ministerio del poder popular de planificación. Venezuela. URL http://www.ine.gov.ve/index.php?option=com_content&view=category&id=95&Itemid=9
- Izaguirre, M.H., Vívenes de Lugo, M., y Castro de Guerra, D. (2015) *Distribución de haplogrupos del ADN mitocondrial en indígenas warao del Estado Delta Amacuro, Venezuela*. VI Congreso Científico de la Facultad de Medicina de la LUZ y X Congreso Venezolano de Genética 27 al 30 de abril. Maracaibo, Venezuela. Invest Clin 56 (Sup. 1):832-836.
- Lahiri, D.K., y Nurnberger J.L.Jr. (1991). *A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies*. Nucleic Acids Research; 19:5444.
- Lares, M., Pérez, E., Schroeder, M., Gestne, A., Case, C., Brito, S. y Ciarfella, A. (2011). *Biochemical and Anthropometric Markers, Metabolic Syndrome and Main Dietary Habits of a waraos Population Sample*. Food and Nutrition Sciences Vol. 2 No. 5. URL http://file.scirp.org/pdf/FNS20110500007_25489266.pdf
- Layrisse, M. y Wilbert J. (1999). *The Diego blood group system and the mongoloid realm*. Monograph N°44. Caracas: Instituto Caribe de Antropología y Sociología. Fundación la Salle de Ciencias Naturales.
- Layrisse, Z., Layrisse, M. y Rodríguez-Larralde, A. (1992). *Estudios genéticos en poblaciones de lengua chibcha*. Ponencia presentada al VI Congreso de Antropología en Bogotá, Colombia. Junio de 1992. Boletín del Museo del Oro No. 38-39, 1995.
- Lizot, J., Kelly, J.A. y Carrera, J. (2007). *Los Yanomami*. En: Salud Indígena en Venezuela, Vol.1: 263-379. Germán Freyre y Aimé Tillet, editores. Editorial Arte. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Caracas, Venezuela.
- Lugo, I. (2013). *Comparación genética de los grupos amerindios Barí y Yukpa de la Sierra de Perijá, Estado Zulia – Venezuela*. Trabajo especial de grado para optar al título de Antropólogo. Universidad Central de Venezuela.
- Marcil, M., Brooks-Wilson, A., Clee, S., Roomp, K., Zhang, L., Yu, L., ... y Hayden, M. (1999). *Mutations in the ABC1 gene in familial HDL deficiency with defective cholesterol efflux*. Lancet, 354(9187): 1341-6.
- Masferrer, E. (2006). *Cambio y continuidad entre los totonacos de la Sierra Norte de Puebla*. Tesis para obtener el grado de Maestro en Antropología Social.

- Universidad Iberoamericana. México. URL <http://www.bib.uia.mx/tesis/pdf/014698/014698.pdf>
- Marulanda, M. (2014). *La importancia del III Consenso Nacional para el manejo de pacientes con dislipidemia*. Editorial en Revista Medicina Interna. 30(1):53. Caracas.
- MedCalc (2015) *Statistical Software version 16.4.3*. MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; URL <https://www.medcalc.org>
- Ministerio del Poder Popular para la Salud (2014). *Anuario de Mortalidad 2012*. Caracas. URL http://www.mpps.gob.ve/index.php?option=com_phocadownload&view=categor&id=11:anuarios-de-mortalidad
- National Cholesterol Education Program NCEP (2001). *The Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III)*. National Heart, Lung, and Blood Institute. National Institutes of Health, No. 01-3670. URL <http://www.nhlbi.nih.gov/files/docs/guidelines/atp3xsum.pdf>
- Nava, J. (2012). *Del morichal a la ribera: dinámicas de cambio cultural y entramados subjetivos entre los warao del delta bajo central*. (Tesis de doctorado en Antropología). Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas, Venezuela.
- Neel, J. (1962). *Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by 'progress'?* American Journal of Human Genetics, 14: 353-362
- Nelson, D. (2007). *Lehninger: Principios de Bioquímica*. 5ta edición. Editorial Omega.
- Oram, J. y Lawn, R. (2001). *ABCA1: the gatekeeper for eliminating excess tissue cholesterol*. Journal of Lipid Research. Vol.42:1173-1179
- Panduro, A. y Vázquez, J. (2001). *Genes y medio ambiente*. Investigación en Salud; 3(99):41-48. Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Jalisco, México.
- Pérez-Gallofré, A., y Gómez-Gerique, J. (1987). *La enfermedad de Tangier*. Química Clínica; vol.6(1):23-30.
- Pramparo, P., Boissonet, C. y Schargrotsky, H. (2011). Evaluación del riesgo cardiovascular en siete ciudades de Latinoamérica: las principales conclusiones del estudio CARMELA y de los subestudios. Revista Argentina

- Puertas Gallego, M. (1999). *Genética. Fundamentos y perspectivas*. 2da edición. McGraw-Hill-Interamericana de España, S.A.U.
- Reed, T., y Schull, W. (1968) *A general maximum likelihood estimation program*. Letters to the editor. *American Journal of Human Genetics*. 20:579-580.
- Rosas, C. (2012). *Perfil lipídico, hematológico y antropométrico en individuos del municipio Tucupita, estado Delta Amacuro*. Trabajo especial de grado para optar a la licenciatura en Bioanálisis. Universidad de Oriente. Venezuela.
- Rust, S., Rosier, M., Funke, H., Real, J., Amoura, Z., Piette, J., ... y Assmann, G. (1999). *Tangier disease is caused by mutations in the gene encoding ATP-binding cassette transporter 1*. *Nat Genet*; 22(4): 352-5.
- Saitou, N. y Nei, M. (1987). *The Neighbor-joining Method: A new method for reconstructing phylogenetic trees*. *Molecular Biology Evolution*. 4(4):406-425
- Salazar, A. y Vargas, A. (1992). *Prehistoria de Venezuela: Venezuela antes de la llegada de los europeos*. Tropycos. Caracas.
- Sánchez de Medina, F. (2000). *Patología molecular de las HDL*. *Ars Pharmaceutica*; 41:1; 59-65
- Schmitz, P. (1983). *Mecanismos das migrações paleoíndias na América tropical. 1. O território nacional, menos os três Estados sulinos*. Comunidade: XXXV. Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. Brasil.
- Siso Martínez, J. (1965). *Historia de Venezuela*. 7ma edición. Caracas: Editorial Yocoima.
- Solari, A.J. (2004). *Genética humana. Fundamentos y aplicaciones en medicina*. 3ra edición. Editorial Médica Panamericana.
- Suárez, J.A. (2007). *The mesoamerican indian languages*. Cambridge Languages Surveys. Cambridge University Press. URL <http://its4book.com/book-depi.php?id=113104&src=gsite&ref=none>
- Suárez, M.M. (1972). *Terminología, alianza matrimonial y cambio en la sociedad warao*. Universidad Católica Andrés Bello. Caracas.
- Swadesh, M. (1959). *Indian linguistic groups of Mexico*. Escuela Nacional de Antropología e Historia. México.

- Teixeira, P. (2005). *Sateré-Mawé. Retrato de um povo indígena*. Universidade Federal do Amazonas. Unicef y UNFPA. Manaus, Brasil. URL https://www.unicef.org/brazil/pt/satere_mawe.pdf
- Valenzuela, A. (2011). *¿Por qué comemos lo que comemos?* Revista Chilena de Nutrición, 38(2): 198-209. Sociedad Chilena de nutrición, bromatología y toxicología. Chile.
- Vargas, I. y Sanoja, M. (1992). *La huella asiática en el poblamiento de Venezuela*. LAGOVEN. Caracas.
- Velásquez, J., Martínez, M., Quintero, B., y Sarsaneda, J. (2011). *Pueblos indígenas en Panamá: una bibliografía*. Compilación. Acción Cultural Ngóbe (ACUN). Panamá. URL http://binal.ac.pa/binal/iframes/archivos/UNA_BIBLIOGRAFIA.pdf
- Villarreal-Molina, M., Aguilar, C., Rodríguez, M., Riano, D., Villalobos, M., Coral, R., ... Cañizales, S., y The Metabolic Study Group (2007). *The ATP-binding cassette transporter A1 R230C variant affects HDL cholesterol levels and BMI in the Mexican population*. Diabetes vol.56: 1884-1884.
- Villarreal-Molina, M. (2007). *Búsqueda de posibles variantes funcionales del gen ABCA1 en individuos mexicanos con hipo e hiper α -lipoproteinemia y su asociación con otros rasgos metabólicos*. (Tesis de doctorado). División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana de México.
- Villarreal-Molina, M. (2008). *Bases genéticas de la variación en los niveles plasmáticos de HDL-colesterol*. Revista de Endocrinología y Nutrición; 16(1): 32-41.
- Wang, J., Burnett, J., Near, S., Young, K., Zinman, B., Hanley, A., ... y Hegele, R. (2000) *Common and rare ABCA1 variants affecting plasma HDL cholesterol*. Atherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 20:1983-1989.
- Wang, N., Silver, D., Thiele, C. y Tall, A. (2001). *ATP-binding Cassette Transporter A1 (ABCA1) Functions as a Cholesterol Efflux Regulatory Protein*. Journal of Biological Chemistry, Vol.276;26:23742-23747.
- Wilbert, J. (1980). *The warao Indians of the Orinoco Delta*. En: Demographic and Biological Studies of the Warao Indians. Wilber, J. y Layrresse, M. Editores. UCLA Latin American Center Publications. University of California, Los Angeles, EEUU.

Wilbert, W., y Ayala, C. (2007). *Los warao*. En: Salud Indígena en Venezuela, Vol.2: 331-397. Germán Freyre y Aimé Tillet, editores. Editorial Arte. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Caracas, Venezuela.

Wilbert, W., y Ayala, C. (2011). *Los warao. Notas sobre su situación presente y actualización bibliográfica*. En: Los Aborígenes de Venezuela; Vol.3: 1115-1155. Jacques Lizot, editor. 2da edición. Fundación La Salle. Caracas, Venezuela.

ANEXOS

Anexo 1

Procedimiento de la Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (PCRrt):

En la PCRrt, los procesos de amplificación y detección se producen de manera simultánea en el mismo vial cerrado, sin necesidad de ninguna acción posterior. Además, mediante detección por fluorescencia se puede medir durante la amplificación la cantidad de ADN sintetizado en cada momento, ya que la emisión de fluorescencia producida en la reacción es proporcional a la cantidad de ADN formado (figura 10). Esto permite conocer y registrar en todo momento la cinética de la reacción de amplificación. Los termocicladores para llevar a cabo la PCRrt incorporan un lector de fluorescencia y están diseñados para poder medir, en cualquier momento, la fluorescencia emitida en cada uno de los viales donde se realice la amplificación. Los sistemas de detección por fluorescencia empleados en la PCRrt pueden ser de dos tipos: agentes intercalantes y sondas específicas marcadas con fluorocromos, diseñadas de manera especial. A continuación, se explica el proceso empleando sondas de hibridación *TaqMan*, ya que es el método empleado en la presente investigación.

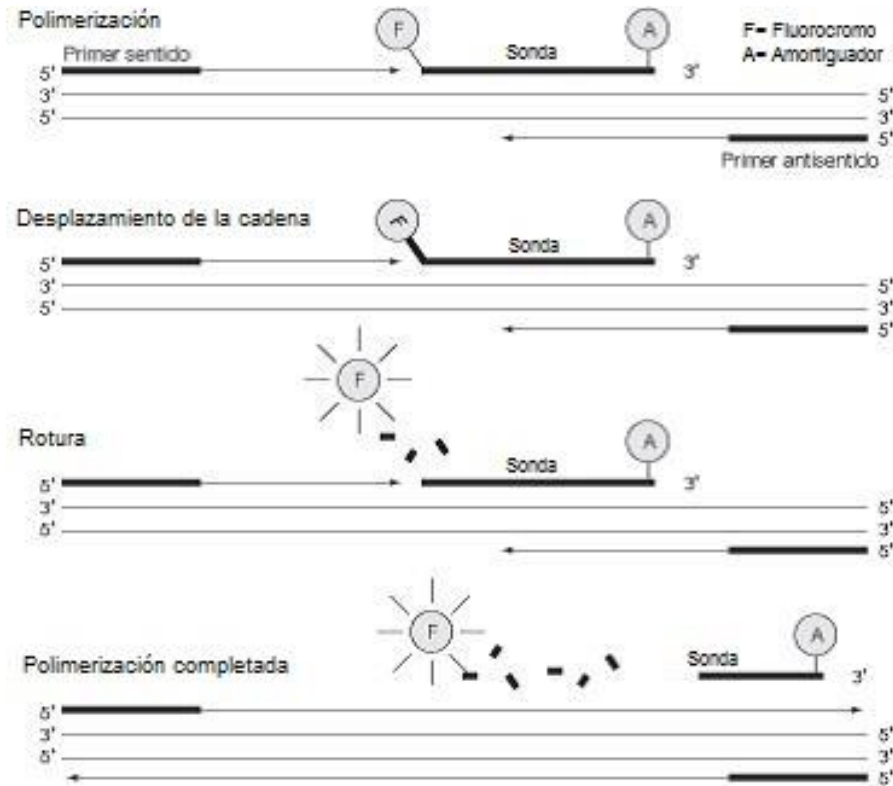
Sondas de hibridación específicas:

Son sondas marcadas con dos tipos de fluorocromos, un donador y un aceptor. El proceso se basa en la transferencia de energía fluorescente mediante resonancia (FRET) entre las dos moléculas. Las más utilizadas son las sondas de hidrólisis, denominadas también sondas *TaqMan*, las sondas *molecular beacons* y las sondas *FRET*.

1. *Sondas de hidrólisis*: Son oligonucleótidos marcados con un fluorocromo donador en el extremo 5' que emite fluorescencia al ser excitado y un aceptor en el extremo 3' que absorbe la fluorescencia liberada por el donador. Para que esto ocurra, las moléculas donadora y aceptora deben estar espacialmente próximas. Además, el espectro de emisión de la primera se ha de solapar con el espectro de absorción de la segunda. Mientras la sonda está intacta, la fluorescencia emitida por el donador es absorbida por el aceptor. Sin embargo, durante la amplificación de ADN diana, la sonda se hibrida con su cadena complementaria. Al desplazarse a lo largo de la cadena, en su acción de síntesis, la ADN polimerasa de *Thermus aquaticus*, que tiene actividad 5' exonucleasa, hidroliza el extremo libre 5' de la sonda, produciéndose la liberación del fluorocromo donador. Como donador y aceptor están, ahora, espacialmente alejados, la fluorescencia emitida por el primero es captada por el lector.

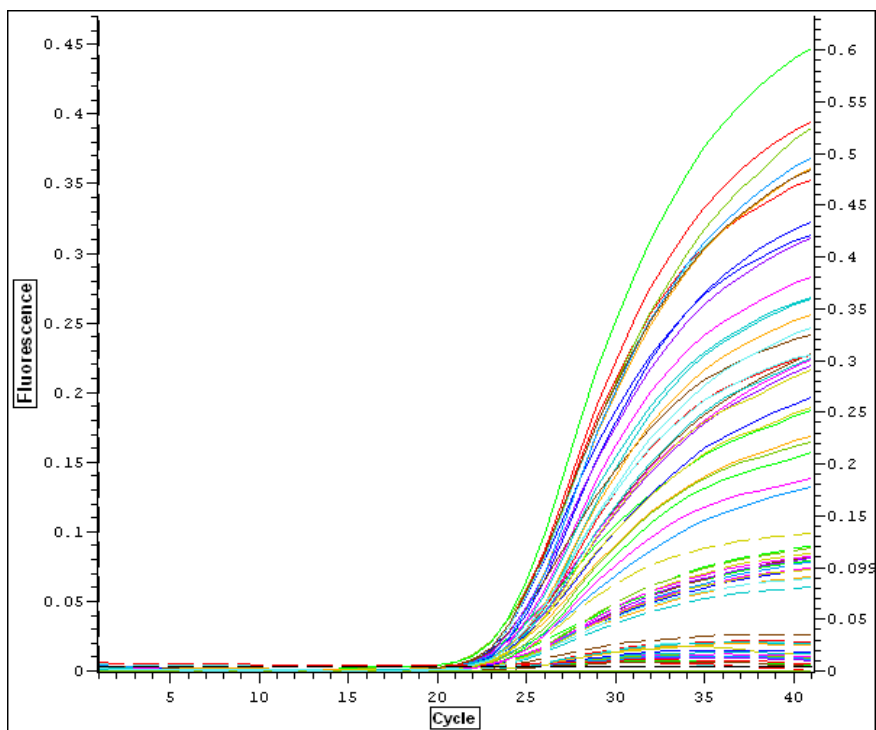
(Costa, 2004).

Figura 10. PCR en tiempo real; fundamentos de la estrategia empleando sondas *TaqMan*. Actividad 5'exonucleasa de la *Taq* polimerasa (González et al., 2001).



El resultado de una PCRrt se visualiza en una gráfica de amplificación arrojada por el CFX Manager software, empleado por el MiniOpticon™ real-time PCR detection system del *MJ Mini™ thermal cycler base BIO-RAD™* (figura 11). En dicha gráfica se expresa la fluorescencia leída por el termociclador en el eje de las ordenadas y el número de ciclos de la PCR en el eje de las abscisas. De esta forma, la curva de amplificación consta de una fase inicial donde la producción de fluorescencia (ADN producto) está por debajo del nivel de detección del termociclador, una segunda fase en la que se da un incremento de la fluorescencia, el cual es en forma exponencial en su inicio, y una tercera fase donde finaliza la reacción y se estabiliza la fluorescencia. En este gráfico es posible establecer un valor de fluorescencia umbral que señala la zona de aumento exponencial; este valor se representa en el gráfico con una recta horizontal (línea Threshold o Umbral).

Figura 11: Gráfica de amplificación del producto de la PCRrt.



Anexo 2

Tablas de resultados para los niveles de HDL de cada caserío warao estudiado.

a) Horqueta

	Sexo F (n)	Sexo M (n)	Total (n)	Total (%)	\bar{x} HDL
HDL bajo (≤ 39 mg/dL)	8	2	10	0,3125	34,5 mg/dL
HDL normal (40-59 mg/dL)	12	5	17	0,5312	47,6 mg/dL
HDL ideal (≥ 60 mg/dL)	4	1	5	0,1562	64,4 mg/dL
Total	24	8	32	0,9999	-

b) Guires

	Sexo F (n)	Sexo M (n)	Total (n)	Total (%)	\bar{x} HDL
HDL bajo (≤ 39 mg/dL)	5	3	8	0,4705	34,37 mg/dL
HDL normal (40-59 mg/dL)	7	1	8	0,4705	47,8 mg/dL
HDL ideal (≥ 60 mg/dL)	1	0	1	0,0588	65 mg/dL
Total	13	4	17	0,9998	-

c) Janakosebe

	Sexo F (n)	Sexo M (n)	Total (n)	Total (%)	\bar{x} HDL
HDL bajo (≤ 39 mg/dL)	8	3	11	0,44	33 mg/dL
HDL normal (40-59 mg/dL)	9	4	13	0,52	46,46 mg/dL
HDL ideal (≥ 60 mg/dL)	1	0	1	0,04	61 mg/dL
Total	18	7	25	1	-

d) Volcán

	Sexo F (n)	Sexo M (n)	Total (n)	Total (%)	\bar{x} HDL
HDL bajo (≤ 39 mg/dL)	5	2	7	0,7777	27,28 mg/dL
HDL normal (40-59 mg/dL)	1	1	2	0,2222	46 mg/dL
HDL ideal (≥ 60 mg/dL)	0	0	0	0,0	0
Total	6	3	9	0,9999	-

e) Yakariyene

	Sexo F (n)	Sexo M (n)	Total (n)	Total (%)	\bar{x} HDL
HDL bajo (≤ 39 mg/dL)	4	0	4	0,3333	37,5 mg/dL
HDL normal (40-59 mg/dL)	7	0	7	0,5833	47,8 mg/dL
HDL ideal (≥ 60 mg/dL)	1	0	1	0,0833	62 mg/dL
Total	12	0	12	0,9999	-

f) Caigual

	Sexo F (n)	Sexo M (n)	Total (n)	Total (%)	\bar{x} HDL
HDL bajo (≤ 39 mg/dL)	2	4	6	0,3157	34,6 mg/dL
HDL normal (40-59 mg/dL)	9	0	9	0,4736	47,6 mg/dL
HDL ideal (≥ 60 mg/dL)	4	0	4	0,2105	63,5 mg/dL
Total	15	4	19	0,9998	-