



Estudio de las variantes alélicas del gen *FUT2* en una población de Rosario, Santa Fe

Valdez, Vanina*; Moreno, Alejandra*; Racca, Amelia*;
García Borrás, Silvia*; Racca, Liliana*;
Cotorruelo, Carlos*; Biondi, Claudia*.

Resumen

El estado secretor de un individuo está determinado por el gen Secretor (*FUT2*), responsable de la presencia de antígenos ABH en las secreciones del organismo. El polimorfismo del gen *FUT2* muestra una gran variabilidad dependiente del tipo de población. Alrededor del 20% de los individuos caucásicos son no-secretadores y presentan la mutación G428A. El objetivo de este trabajo fue estudiar las variables alélicas del gen *FUT2* en una población de Rosario. Se trabajó con muestras de sangre periférica de donadores voluntarios (n=1728). Se determinó el estado secretor en plasma y saliva y el fenotipo Lewis. El ADN genómico fue extraído por la técnica de salting-out modificada y fue analizado por ASA-PCR con cebadores específicos para el alelo G428A y para el alelo wild type del gen *FUT2*. Los resultados obtenidos mostraron que el 77% de los individuos investigados fueron secretadores y presentaron el fenotipo Lewis Le(a-b+). El polimorfismo G428A estuvo presente en homocigosis en un 7.5%, valor menor al reportado en la bibliografía para la población caucásica. El análisis molecular del gen *FUT2* confirmaría la diversidad genética de la población investigada y podría ser utilizada como un marcador poblacional.

Palabras clave: Variables alélicas - Gen - *FUT2*

Summary

The secretor status is determined by the secretor gene (*FUT2*) responsible of the ABH antigens expression in human secretions. About 20% of Caucasian individuals are non-secretors. The aim of this study was to study the allelic varieties of the *FUT2* gene by a PCR reaction. We worked with peripheral blood samples of

volunteers (n=1728). We determined the secretor status in plasma and saliva. The genomic DNA was extracted by an enzymatic digestion method and was analyzed by ASA-PCR with specific primers for the G428A allele and for the wild type allele of the *FUT2* gene. The results obtained by serologic and molecular methods showed that the 77% of the investigated individuals were secretors. The G428A polymorphism had present in a 7.5%. The allelic varieties of the other non-secretor individuals different to the G428A might correspond to other mutations. The molecular analysis of the *FUT2* gene confirms the genetic diversity of the investigated population.

Key words: Gene - *FUT2* - Allelic varieties

Introducción

La expresión de los antígenos del grupo sanguíneo ABO, no está limitada a los glóbulos rojos, también están presentes en la superficie de otras células del organismo y en las secreciones.

Los antígenos Lewis son estructuras de carbohidratos que forman epitopes sobre glicolípidos y glicoproteínas. Estos antígenos no son exclusivos de los eritrocitos, constituyen un sistema de antígenos solubles presentes en suero y plasma; los glóbulos rojos adquieren el fenotipo Lewis por adsorción de los mismos del plasma. Los genes *Lewis* (*Le* y *le*) y *secretor* (*Se* y *se*) determinan el fenotipo Lewis. El producto del gen *Le* ($\alpha(1,3/11,4$ fucosiltransferasa) une a la fucosa en enlace $\alpha(1\rightarrow4)$ al GlcNAc subterminal; esta configuración tiene actividad Le^a . El gen *Se* determina una $\alpha(1,2)$ fucosiltransferasa que une la fucosa en enlace $\alpha(1\rightarrow2)$ al terminal Gal de un precursor tipo 1. La configuración con dos partes de fucosa tiene actividad Le^b .

*Laboratorio de Inmunohematología e Inmunogenética. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Suipacha 531. 2000 Rosario, Argentina. cbiondi@fbioyf.unr.edu.ar

Así, Le^b resulta de la presencia de los genes *Le* y *Se*; *Le* sin *Se* da lugar a la actividad Le^a.

El individuo que posea ambos genes tendrá eritrocitos que expresarán el antígeno Le^b pero no Le^a. Los glóbulos rojos de personas con el gen *Le* pero no *Se* expresarán el antígeno Le^a. El individuo homocigota para el alelo amorfo *le* no tendrá reactividad Lewis en los glóbulos rojos o en los oligosacáridos de tipo 1 en otros sitios del cuerpo¹. Los genes Lewis (*Le* y *le*), y secretor (*Se* y *se*) determinan el fenotipo Lewis². Los cuatro fenotipos Lewis posibles: Le(a+b-), Le(a-b+), Le(a-b-) y Le(a+b+) son el resultado de combinaciones distintas de los alelos de los loci *Se* y *Le* que lo determinan³. Los tres primeros fueron identificados en individuos caucásicos y el cuarto fenotipo fue encontrado entre taiwaneses⁴ (tabla 1).

Tabla 1. Genotipo y Fenotipo Lewis.

GENOTIPO SECRETOR	GENOTIPO LEWIS	FENOTIPO ERITROCITARIO	SUSTANCIAS ABH EN SALIVA
Se/Se o Se/se	Le/Le o Le/le	Le(a-b+)	Positiva
se/se	Le/Le o Le/le	Le(a+b-)	Negativa
Se/Se o Se/se	le/le	Le(a-b-)	Positiva
se/se	le/le	Le(a-b-)	Negativa

Loci ABO, Hh y Sese

Los genes A y B localizados en el locus ABO del cromosoma 9, codifican las glicosiltransferasas que producen los antígenos A y B, respectivamente. Se considera que el gen O no es funcional porque la proteína que produce, no determina antígeno de grupo sanguíneo detectable. Los genes de los loci Hh y Sese, están en el cromosoma 19 y tienen un vínculo estrecho^{1,5}.

Los determinantes oligosacáridos del grupo sanguíneo H sirven como precursores esenciales para la acción de glicosiltransferasas específicas que construyen los antígenos de los grupos sanguíneos A y B. El locus del gen *H* (*FUT1*) codifica una α(1,2)fucosiltransferasa que cataliza la síntesis de los determinantes H a través de una reacción de transglicosilación que transfiere L-fucosa desde el sustrato GDP-fucosa al residuo β-D-galactosa en el extremo no reductor de glicoconjugados para formar motivos Fucα(1,2)Gal-β H-activos. El locus *Se* (que determina una α(1,2)fucosiltransferasa del tipo locus *H*) que codifica la enzima *Se*, puede también sintetizar determinantes del grupo sanguíneo H. La expresión del locus *H* está mayormente restringida a tejidos derivados del mesodermo (como progenitores eritrocitarios) o ectodermo (epidermis), mientras que la expresión del locus *Se* (*FUT2*) está aparentemente restringida al epitelio derivado del endodermo embrionológico, incluyendo aquellas células epiteliales que revisten el estómago, intestino, y glándulas salivares^{3,5,6}.

Se demostró que los genes *FUT1* y *FUT2* están estrechamente ligados, sugiriendo que los mismos pueden haber surgido por duplicación génica y divergencia subsecuente^{7,8}.

Polimorfismo del gen FUT2

La diversidad genética humana ha sido desde un largo tiempo, un tópico interesante para su investigación y ha tenido importantes implicancias para la evolución humana, análisis forense y la distribución de enfermedades genéticas en las poblaciones.

El polimorfismo del gen *FUT2* fue descrito en varias poblaciones humanas del mundo. Este polimorfismo mostró una gran variabilidad dependiente del tipo de la población estudiada^{9,10}. La homocigocidad para los alelos nulos en el locus *Se*, se observa en aproximadamente el 20% de las poblaciones y produce el fenotipo no secretor, caracterizado por la ausencia de cantidades normales de sustancias A, B, y H en la saliva. Por el contrario, aproximadamente el 80% de los humanos tienen el fenotipo secretor y elaboran sustancias del grupo sanguíneo en cantidades fácilmente detectables por ensayos de inhibición de la aglutinación estándar¹¹.

Se ha encontrado entre los no secretores una mutación puntual “nonsense” homocigota llamada G428A, la cual cambia el Trp¹⁴³ por un codón stop, que inactiva completamente a la enzima *Se*^{11,12}. Esta mutación fue encontrada en la mayoría de los individuos no secretores de poblaciones caucásicas de Estados Unidos, Suecia, Dinamarca y Sudáfrica¹³.

Se han encontrado otras mutaciones entre individuos japoneses, cuya población presenta mayor variabilidad. La A385T, conocida como Se^w, secretor débil (w: weak), es una mutación simple “missense” donde cambia un aminoácido por otro, Ile¹²⁹→Phe^{14,15,16}; la misma se distribuye homocigóticamente entre los no secretores pero, además, puede presentarse en heterocigosis junto al alelo wild type produciendo una enzima inestable entre los secretores¹⁶.

Las mutaciones en el gen *FUT2* parecen mostrar un modelo geográfico o vías étnicas y ellas podrían ser utilizadas como marcadores antropológicos. Debido a la gran influencia de antecesores europeos en esta región nos lleva a pensar que las variantes alélicas del gen *FUT2* descritas para la población caucásica estarían presentes en nuestra población.

El objetivo del presente trabajo fue investigar las variantes alélicas de la enzima FUT 2 mediante el diseño de estrategias de PCR en una población de Rosario.

Materiales y métodos

Se trabajó con sangre remanente de hemogramas de individuos que concurren al Hospital Provincial del Centenario para realizar estudios de control (n= 1728). También se obtuvo muestras de saliva provenientes de

los mismos individuos para la detección de antígenos solubles ABH.

De las muestras de sangre se obtuvo el ADN para los estudios moleculares y el plasma para estudios serológicos.

Las muestras fueron tomadas con el consentimiento previo de los pacientes y respetando las normas establecidas en la convención de Helsinki. Todos los procedimientos fueron realizados de acuerdo a los estándares éticos establecidos por la Universidad Nacional de Rosario.

Métodos serológicos¹¹

- Determinación del carácter secretor en plasma

Se determinó el carácter secretor investigando la presencia de antígenos ABH a partir del plasma de cada muestra de sangre por la técnica de inhibición de la hemoaglutinación.

Técnica de inhibición de la hemoaglutinación:

- ❑ se enfrenta 1 gota de la muestra en estudio con 1 gota del antisuero (isogrupo, título 4)
- ❑ incubación 10 minutos a temperatura ambiente.
- ❑ se agregan 2 gotas de suspensiones salinas isotónicas de glóbulos rojos isogrupo (2%-5% V/V).
- ❑ se centrifugan las reacciones 1 minuto a 1000 g.
- ❑ se lee aglutinación macroscópica.

La ausencia de aglutinación, indica la presencia del antígeno soluble. Con esta técnica se evalúa en forma indirecta el carácter secretor del individuo.

Esta técnica también se aplica para detectar antígenos ABH solubles a partir de muestras de salivas. Las mismas previamente son sometidas a choque térmico por sucesivos congelamientos y descongelamientos con el objeto de eliminar la mucina presente que interfiere en las reacciones de aglutinación.

Tipificación del fenotipo del grupo sanguíneo Lewis

Se determinó el fenotipo Lewis eritrocitario usando la prueba de hemoaglutinación, donde se enfrentaron 50 µl de suspensión al 5% V/V de glóbulos rojos lavados en PBS de cada muestra de sangre con 50 µl del anticuerpo monoclonal anti-Le^a (Laboratorio DiaMed Argentina S.A.) y en forma paralela con el anti-Le^b (Laboratorio DiaMed Argentina S.A.). Luego las reacciones se centrifugaron durante 1 minuto a una velocidad de 2000g para ser leídas.

Estudios estadísticos

Se realizaron estudios estadísticos para comprobar la relación que existe entre el carácter secretor y la presencia del antígeno Le^b, para lo cual se utilizó la test de χ^2 .

Métodos moleculares¹⁷

- Extracción de ADN genómico

La extracción del ADN genómico se realizó por la técnica de salting-out modificada con lisado rápido y digestión enzimática. Se colocaron en tubos de microcentrifuga 350 µl de sangre periférica anticoagulada con EDTA al 5% y 1 ml de solución

amortiguadora TE (Tris-HCl pH = 7,3 10 mM, EDTA 1 mM). Se centrifugó durante 1 minuto a 13000 r.p.m. Se descartó el sobrenadante y se resuspendió el botón de leucocitos. Este lavado se repitió dos o tres veces más hasta obtener un botón celular limpio, libre de glóbulos rojos y hemoglobina. El paquete de glóbulos blancos obtenido fue resuspendido en 250 µl de solución amortiguadora Buffer K (KCl 50 mM, MgCl₂ 2,5 mM, Tris-HCl pH = 8,3 10 mM, Nonidet P40 0,5%, proteinasa K 0,1 mg/ml) e incubado durante una hora a 56°C. Posteriormente se agregó a este lisado 250 µl de NaCl 2,5 M, se mezcló vigorosamente 15 segundos y se centrifugó a 13000 r.p.m. durante 15 minutos. El sobrenadante fue transferido a otro tubo conteniendo 1 ml de etanol 99,5% y se mezcló suavemente por inversión hasta la formación del precipitado de ADN. Posteriormente se centrifugó 5 minutos a 13000 r.p.m., se descartó el sobrenadante y se realizaron 2 lavados con 1 ml de etanol al 70%. Luego del último lavado se dejó secar el precipitado durante aproximadamente 2 horas a temperatura ambiente y se resuspendió en agua destilada estéril en un volumen variable entre 250 µl y 500 µl, dependiendo del tamaño del precipitado.

La calidad y cantidad de ADN genómico extraído fue examinada por electroforesis en geles de agarosa al 1% P/V en solución amortiguadora TBE 1X (Tris 135 mM, Ácido Bórico 45 mM, EDTA 2,5 mM), con 0,5 µg/ml de bromuro de etidio.

- Análisis del polimorfismo G428A por ASA-PCR

Las muestras de ADN extraídas fueron analizadas por ASA-PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa - Amplificación Alelo Específica) con cebadores específicos (Laboratorio Operon) para el alelo G428A y para el alelo wild-type del gen *FUT2*⁶. Ver en tabla 2 las secuencias de los cebadores. Se amplificó un fragmento de 132 pares de base (pb) donde el molde fue el ADN extraído. Se trabajó con un volumen final en la mezcla de reacción de 20 µl conteniendo 2 µl de solución de ADN (125ng/µl, aproximadamente), 10,6 µl de agua destilada estéril (Laboratorios Larjan), 4 µl de solución tampón (5X Colorless Go Taq Buffer, pH 8,5, 7,5 mM MgCl₂, concentración final = 1,5 mM, Laboratorio Promega), 1,6 µl de solución de dNTPs 2,5 mM (concentración final = 0,2 mM, Laboratorio Promega), 0,4 µl de cada solución de cebadores 25 µM (0,4 µl cebador directo y 0,4 µl cebador reverso, concentración final = 0,5 µM cada uno) y 1 µl de ADN polimerasa Taq (cantidad final = 0,5 U, Laboratorio Promega).

Para la elección de la temperatura de hibridización de los cebadores (temperatura a la cual se pegan al molde con alta especificidad) se realizó una PCR en gradiente de temperatura¹⁸.

El programa utilizado para la amplificación fue:

- ❑ 1 ciclo de desnaturalización inicial a 94 °C durante 4 minutos, luego 30 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 1 minuto, hibridización a 69 °C durante 1 minuto y extensión a 72 °C durante 1 minuto; y finalmente una extensión a 72 °C durante 10 minutos.

Tabla 2. Secuencia de cebadores para el análisis de la mutación G428A

Cebador	Tm	Secuencia	Especificidad
FUT2-Se-428-s	68,8 °C	5'-CCGGTACCCCTGCTCGTG-3'	Se (directo)
FUT2-se-428-f	66,6 °C	5'-ACCGGTACCCCTGCTCGTA-3'	se (directo)
FUT2-all-523-as	66,7 °C	5'-CCGGCTCCCGTTACCTG-3'	No específico (reverso)

□ La reacción se realizó en un termociclador PTC-200, MJ Research, Waltham, MA.

En todas las amplificaciones realizadas se incorporó un tubo donde se reemplazó la muestra de ADN por agua destilada utilizado como control negativo de reacción.

Los productos de la PCR fueron verificados por electroforesis (durante 10 minutos a 20 mA/95 V, Fuente: Chemar S.A.) en geles de agarosa (Laboratorio Invitrogen) al 2 % P/V (en solución tampón TBE 1X) teñidos con bromuro de etidio.

Resultados

Estudios serológicos:

- Determinación del carácter secretor en saliva y plasma

De las 1728 muestras procesadas, 1348 (78%) inhibieron la hemoaglutinación. Estos individuos tienen antígenos ABH en plasma y son considerados secretores. Las 380 muestras restantes (22%) no inhibieron la hemoaglutinación y, por lo tanto, estos individuos son considerados no-secretores

Tipificación del fenotipo de grupo sanguíneo Lewis

Los resultados obtenidos del fenotipo Lewis se muestran en la Tabla 3.

El 100% de los individuos secretores se correspondió con el fenotipo Lewis eritrocitario Le (a-b+) y los individuos no secretores correspondieron el 100% al fenotipo Le(a+b-).

Estudios estadísticos

Existe asociación perfecta entre carácter secretor y la presencia de Le^b ($p < 0.0001$ ó $p = 0.0000$).

Estas frecuencias siguen el test de χ^2

Estudios moleculares:

- Extracción de ADN genómico

La cantidad y calidad de las muestras de ADN fueron controladas en geles de agarosa al 1% P/V y teñidos con bromuro de etidio (ver Figura 1). En la figura se muestra un gel de agarosa donde se corrieron siete de las muestras (M1-M7) junto a un marcador de concentración (CC) que tiene una concentración de 10 ng/ μ l. Se estimó que la concentración de las muestras es 10 veces mayor a la del marcador.

- Análisis del polimorfismo G428A por ASA-PCR

Tabla 3. Fenotipo Lewis en la población estudiada

N° individuos	Fenotipo Lewis	Carácter Secretor
1348	Le(a-b+)	Secretor
380	Le(a+b-)	No secretor

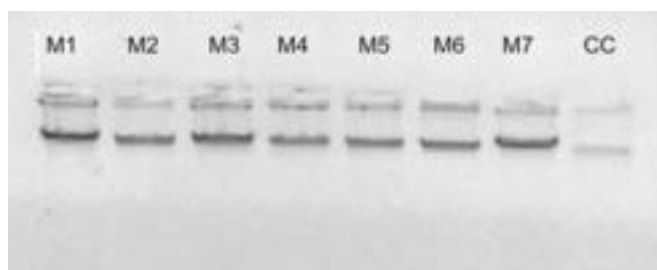


Figura 1. Gel de agarosa al 1% P/V para estimar la concentración de las muestras de ADN obtenidas.

Este análisis molecular mostró que el 38,8 % de los individuos eran secretores homocigotas (ninguno de ellos presenta el alelo G428A), otro 38,8 % de los individuos eran secretores heterocigotas (presentan 1 alelo con la mutación G428A), y el 6,7 % de los individuos fue no-secretor homocigota para la mutación G428A (presentan la mutación en los 2 alelos) (tabla 4).

En la figura 2 se muestra un gel de agarosa al 2% P/V con parte de los resultados. Se puede observar los fragmentos de 132 bp obtenidos de la amplificación por ASA-PCR. Cada muestra (M1-M6) fue amplificada en paralelo con los dos pares de cebadores, el par que reconoce la versión wild-type del gen *FUT2* y el par que reconoce la mutación G428A. También junto a estas muestras se corrieron controles positivos y negativos. La muestra 1 (M1) pertenece a un individuo secretor homocigota para el alelo wild-type, lo que demuestra que no lleva la mutación G428A; lo mismo puede observarse para la muestra 2 (M2), la muestra 3 (M3), la muestra 5 (M5) y la muestra 6 (M6). La muestra 4 (M4) pertenece a un individuo secretor heterocigota porque presenta un alelo wild-type y un alelo con la mutación G428A.

El 15.9% del total de muestras analizadas (276) fueron resultados discrepantes entre lo determinado

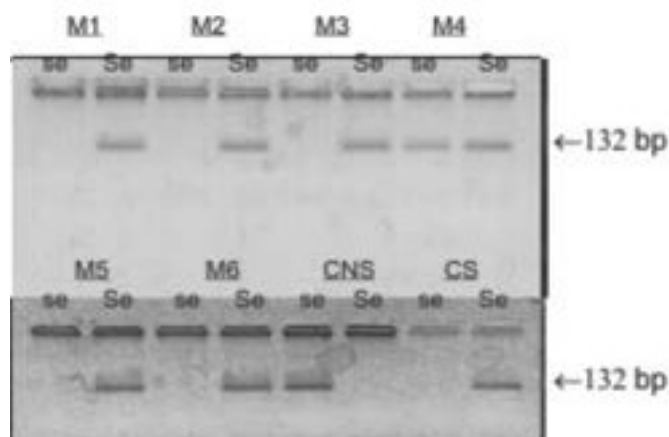


Figura 2. Gel de agarosa al 2% P/V con los resultados de la amplificación ASA-PCR para el análisis del polimorfismo G428A. CNS= control no secretor homocigota para el alelo G428A y CS= control secretor homocigota para el alelo wild-type. M1 – M6 muestras analizadas

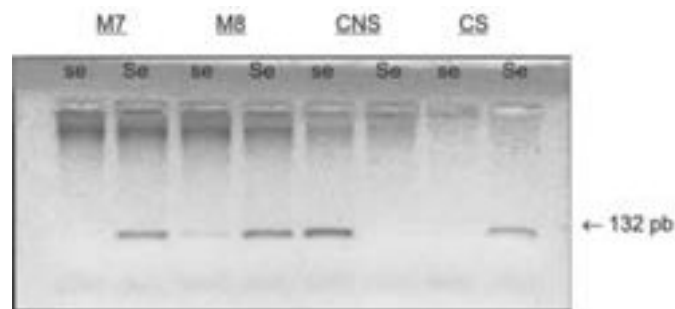


Figura 3. Gel de agarosa al 2% P/V con los resultados de la amplificación ASA-PCR para el análisis del polimorfismo G428A donde se ven algunas discrepancias con lo determinado serológicamente.

Tabla 4. Relación entre resultados serológicos y moleculares.

Nº individuos	% individuos	Resultados serológicos	Resultados moleculares
670	38,8	Secretor	Homocigota alelo wild-type
670	38,8	Secretor	Heterocigota alelo wild-type
8	0,5	Secretor	Homocigota alelo G428A
104	6,0	No secretor	Homocigota alelo wild-type
160	9,2	No secretor	Heterocigota alelo wild-type
116	6,7	No secretor	Homocigota alelo G428A

serológicamente y lo obtenido por la técnica de ASA-PCR (Figura 3). En la figura 3 se muestra un gel de agarosa al 2% P/V donde fueron corridas las muestras M7 y M8, junto a los controles CNS y CS. Las dos muestras, M7 y M8, resultaron ser no secretoras durante el ensayo de carácter secretor, pero por la técnica de ASA-PCR mostraron no tener la mutación G428A en ninguno de sus alelos.

Discusión

Los patrones de glicosilación, incluidos los antígenos de grupo sanguíneo ABO, cambian durante el desarrollo embrionario, maduración de las células y en la transformación maligna.

Los estudios de los antígenos del sistema Lewis y carácter secretor son muy variados y generalmente no han aportado conclusiones definitivas. Los análisis críticos de los mismos, revelan que en diversas instancias, la serología resulta inadecuada, principalmente como resultado de las dificultades en la fenotipificación

de individuos con diversas patologías o aquellos provenientes de diversos grupos étnicos. Las bases genéticas de los fenotipos Lewis y su asociación con el carácter secretor no son aún bien conocidas.

Los sistemas de grupo sanguíneo humano ABO, Lewis y H están determinados por oligosacáridos, cuya biosíntesis depende de glicosiltransferasas. Estas enzimas codificadas genéticamente, agregan monosacáridos a moléculas precursoras de manera secuencial^{2,3}.

El gen FUT2 codifica una enzima $\alpha(1,2)$ fucosiltransferasa, la cual es responsable de la presencia de antígenos ABH en las secreciones del cuerpo. La determinación del carácter secretor de un individuo puede llevarse a cabo a partir de la evaluación de la presencia de estos antígenos solubles en las secreciones. Sin embargo, el precursor H tipo-1 es el precursor común en la vía de síntesis de los antígenos ABH y Le^b, por lo tanto, la determinación del antígeno Le^b también puede ser utilizado para caracterizar el estado secretor del individuo².

El fenotipo Le(a-b+) de eritrocitos usualmente con-

cuerda con el estado secretor en saliva, mientras que el fenotipo Le(a+b-) representa al estado no secretor. Ocasionalmente puede observarse inconsistencia entre el fenotipo Le(a-b+) y fenotipo secretor o entre el fenotipo Le(a+b-) y fenotipo no secretor, esto podría deberse a una hemoaglutinación ambigua de eritrocitos en la prueba o a una falla en la detección de antígenos ABH en las secreciones del organismo¹¹. En nuestro estudio hemos obtenido una total concordancia entre fenotipo Lewis y carácter secretor, ya que todos los individuos que dieron negativo la prueba de inhibición de la hemoaglutinación, fenotipo secretor, fueron Lewis Le(a-b+) y todos los individuos que dieron positivo la prueba de inhibición de la hemoaglutinación, fenotipo no secretor, fueron Lewis Le(a+b-).

El fenotipo Lewis Le(a-b-) no fue observado entre los individuos secretores ni entre los no secretores testeados en este estudio, ni tampoco el fenotipo Lewis Le(a+b+). Este último es específico de la población asiática y nunca fue hallado en la población caucásica¹⁹.

Durante los ensayos serológicos que hemos realizados se observó que el 78% de los individuos fueron secretores, este valor se encuentra dentro del rango hallado entre individuos caucásicos de otros países, 78% en Austria⁶, 80% en Suecia¹², 70% en Sudáfrica²⁰, 80,1% en Dinamarca¹⁰. Esto indica que la mayor parte de la población analizada tiene actividad $\alpha(1,2)$ fucosiltransferasa, ya que puede detectarse la presencia de antígenos ABH en sus secreciones.

Como se mencionó, el locus *FUT2* es muy polimórfico y parte de las variantes alélicas producen una enzima $\alpha(1,2)$ fucosiltransferasa sin actividad. El polimorfismo observado en este gen mostró una gran dependencia respecto a la procedencia étnica de la población en estudio. La información acerca de las mutaciones o polimorfismos que ocurren en una población étnica pueden ser utilizados para analizar su origen. Por ejemplo, la mutación G428A se ha encontrado sólo en la población caucásica¹⁰, mientras que la mutación A385T parece ser específica para la población asiática, incluyendo a los aborígenes de Taiwán^{19,14,11}.

Entre los individuos no secretores de Portugal, la mutación G428A se presenta con una frecuencia del 89%, además otros polimorfismos también se presentaron pero con menor frecuencia, como la mutación C571T que apareció con una frecuencia del 0,055%¹⁴. En Estados Unidos el único polimorfismo encontrado, responsable del carácter no secretor fue el G428A¹⁰. En Dinamarca, el 89,9% de los no secretores presentó la mutación G428A². En Sudáfrica, entre los no secretores, el alelo G428A, en homocigosis (se⁴²⁸se⁴²⁸), apareció con una frecuencia del 96,7% y el alelo C571T, en heterocigosis junto al G428A y C357T, con una frecuencia del 3,33%²⁰.

En nuestro trabajo, donde se ensayó el polimorfismo G428A, para las 1728 muestras en estudio, la frecuencia hallada para esta mutación fue del 6,7% (30,5% de los no secretores), valor menor al descripto por la bibliografía.

Este trabajo nos muestra que el polimorfismo del

gen *FUT2* de la población en estudio no sigue el parámetro hallado en las poblaciones caucásicas de otros países como se esperaba. Este hallazgo podría deberse a la presencia de otras variantes alélicas responsables de la inactividad de la $\alpha(1,2)$ fucosiltransferasa en esta población. La búsqueda de diferentes variantes genéticas de *FUT2* existentes en otros grupos étnicos podría ser ensayada en nuestro estudio. Además, debería evaluarse la existencia de algún polimorfismo nuevo, quizás característico de nuestra región.

Teniendo en cuenta que la composición étnica de la población argentina es producto del mestizaje entre europeos, africanos e indígenas podríamos justificar la discrepancia entre los valores hallados para la población caucásica y la nuestra.

Referencias

1. Mollison, PL; Emgelfriet, CP; Contreras, M Cap. 4. En Blood Transfusion in Clinal Medicine. 10th Edition, pp 132-150. Editorial Blackwell Science Ltd. Oxford, 1997.
2. Henry, S; Oriol, R; Samuelsson, B. Lewis histo-blood group system and associated secretory phenotypes. Vox Sang. 1995; 69: 166-182.
3. Yu, LC; Broadberry, RE; Yang, YH. Heterogeneity of the human Secretor $\alpha(1,2)$ fucosyltransferase gene among Lewis (a+b-) non-secretores. Biochem Biophys Res Commun. 1996; 222: 390-394.
4. Chang, JG; Ko, YC; Lee, JC; Liu, TC. (2002) Molecular analysis of mutations and polymorphisms of the Lewis Secretor type $\alpha(1,2)$ fucosyltransferase gene reveals that Taiwan aborigines are of Austronesian derivation. J. Hum. Genet. 47(2): 60-65.
5. Storry, JR; Johannesson, JS; Poole, J; Strindberg, J; Rodrigues, MJ; Yahalom, V; Levene, C; Fujita, C; Castilho, L; Hustinx, H; Olsson, ML Identification of six new alleles at the FUT1 and FUT2 loci in ethnically diverse individuals with Bombay and Para-Bombay phenotypes. Transfusion. 2006; 46: 21149-2155.
6. Koda, Y; Tachida, H; Pang, H; Liu, Y; Soejima, M; Ghaderi, AA; Takenaka, O; Kimura, H. Contrasting patterns of polymorphisms at the ABO-Secretor gene (*FUT2*) and plasma $\alpha(1,3)$ fucosyltransferase gene (*FUT6*) in human populations. Genetics. 2001; 158: 747-756.
7. Rouquier, S; Lowe, JB; Kelly, RJ; Fertitta, AL; Lennon, GG; Giorgi, D. Molecular cloning of a human genomic region containing the H blood group $\alpha(1,2)$ -fucosyltransferase gene and two H locus-related DNA restriction fragments isolation of a candidate for the human secretor blood group locus. J Biol Chem. 1995; 270: 4632-4639.
8. Koda, Y; Soejima, M; Kimura, H Structure and expression of H-type GDP-L-fucosa: beta-D-galactoside 2-alpha-N-fucosyltransferase gene (*FUT1*). Two transcription start sites and alternative splicing generate several forms of FUT1 mRNA. J Biol Chem. 1997; 272: 7501-7505.
9. Serpa, J; Mendes, N; Reis, CA; Santos Silva, LF; Almeida, R; Le Pendu, J; David, L. Two new FUT2 (fucosyltransferase 2 gene) missense polymorphism, 739 G→A and 839 T→C, are partly responsible for non-secretor status in a Caucasian population from Northern Portugal. Biochem J. 2004; 383: 469-474.
10. Kelly, RJ; Rouquier, S; Giorgi, D; Lennon, GG; Lowe, JB. Sequence and expression of a candidate for the human Secretor blood group $\alpha(1,2)$ -fucosyltransferase gene (*FUT2*). Homozygosity for an enzyme-inactivating nonsense mutation commonly correlates with the non-secretor phenotype. J Biol Chem. 1995; 270: 4640-4649.

11. Kudo, T; Iwasaki, H; Nishihara, S; Shinya, N; Ando, T; Narimatsu, I; Narimatsu, H. Molecular genetic analysis of the Human Lewis histo-blood group system II. Secretor gene inactivation by a novel single missense mutation A385T in Japanese nonsecretor individuals. J Biol Chem. 1996; 271 (16): 9830-9837.
12. Thorven, M; Grahn, A; Hedlund, KO; Johansson, H; Wahlfrid, C; Larson, G; Svensson, L. A homozygous nonsense mutation (428G→A) in the human Secretor (FUT2) gene provides resistenc to Symptomatic Norovirus (GGII) infections. J Virol. 2005; 79 (24): 15351-15355.
13. Svensson, L; Petersson, A; Henry, SM. Secretor genotyping for A385T, G428A, C571T, C628T, 685delITGG, G849A, and other mutations from a single PCR. Transfusion. 2000; 40: 856-860
14. Serpa, J; Mendes, N; Reis, CA; Santos Silva, LF; Almeida, R; Le Pendu, J; David, L. Two new FUT2 (fucosyltransferase 2 gene) missense polymorphism, 739 G→A and 839 T→C, are partly responsible for non-secretor status in a Caucasian population from Northern Portugal. Biochem J. 2004; 383: 469-474.
15. Yu, LC; Chu, CC; Chan, YS; Chang, CY; Twu, YC; Lee, HL; Lin, M.(2001) Polymorphism and distribution of the Secretor $\alpha(1,2)$ -fucosyltransferase gene in various Taiwanese populations. Transfusion. 41: 1279-1284.
16. Svensson, L; Petersson, A; Henry, SM. Secretor genotyping for A385T, G428A, C571T, C628T, 685delITGG, G849A, and other mutations from a single PCR. Transfusion. 2000; 40: 856-860.
17. Lodish H., Berk A., Zipursky S.L., Matsudaira P., Baltimore D., Darnell J. Biología Celular y molecular. Ed. Médica Panamericana. 4ta. Edition, 2002.
18. Gassner, C; Schmarda, A.; Kilga-Nogler, S; Jenny-Feldkircher, B; Rainer, E; Müller, TH; Wagner, FF; Flegel, WA; Schönitzer, D. Rhesus D/CE typing by polymerase chain reaction using sequence-specific primers. Transfusion. 1997; 37: 1020-1026.
19. Chang, JG; Ko, YC; Lee, JC; Liu, TC. Molecular analysis of mutations and polymorphisms of the Lewis Secretor type $\alpha(1,2)$ fucosyltransferase gene reveals that Taiwan aborigines are of Austronesian derivation. J. Hum. Genet. 2002; 47(2): 60-65.
20. Liu, Y; Koda, Y; Soejima, M; Pang, H; Schlaphoff, T; du Toit, ED; Kimura, H. Extensive polymorphism of the FUT2 gene in an African (Xhosa) population of South Africa. Hum Genet. 1998; 103: 204-210.