

---

# Alta frecuencia de un haplotipo susceptible del gen Mannose Binding Lectin, en las islas AnapiaSuana del Lago Titicaca

---

José Sandoval S. \*; Hans O. Madsen \*\*; Peter Garred \*\*; Ricardo Fujita \*

## RESUMEN

Se determinaron las combinaciones de variantes genéticas en 4 sitios del gen de la proteína asociada al sistema inmune MBL (mannose binding lectin), en 19 pobladores de las islas de Anapia-Suana del Lago Titicaca. Se encuentran solamente 3 combinaciones (haplotipos): LYFB, HYPA Y LYPA y se observa alta frecuencia (0.58) del haplotipo defectuoso LYPB en las mencionadas islas sobrepasando a otras frecuencias previamente reportadas en el mundo. Este haplotipo es poco frecuente en poblaciones europeas, asiáticas y africanas. La deficiencia sérica de LYPB predispone a infecciones como tuberculosis, VIH-1 y a enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide y lupus eritematoso entre otras. Con estos antecedentes nuestros futuros esfuerzos se dirigirán a investigar la razón de la alta frecuencia de LYPB en estas islas y determinar la de las otras islas aledañas.

*Palabras Clave:* Sistema inmune MBL, haplotipos LYPB, HYPA, LYPA.

## SUMMARY

We have analyzed the combination of variants at 4 sites of the gene MBL (mannose binding lectin) which is part of the immune system, in 19 normal individuals from the islands of Anapia-Suana in the Lake Titicaca. Only 3 combinations (haplotypes) were registered: LYPB, HYPA and LYPA; the proportion of the presumed defective haplotype LYPB is 0.58 being the highest ever recorded. This haplotype is rare among European, Asian and African populations. It predisposes to infectious diseases as tuberculosis and AIDS as well as autoimmune diseases like rheumatoid arthritis and lupus erythematosum. This finding lead our future efforts to elucidate the reason of this high frequency of LYPB and to determine its proportion in other islands of the Titicaca Lake.

*Key Words:* Gene MBL, Haplotypes LYPB, HYPA, LYPA.

## INTRODUCCIÓN

El gen MBL codifica para una lectina involucrada en la defensa contra los patógenos por su acción de reconocimiento de agentes extraños y su interacción con otros sistemas como el del complemento (1,2). Las mutaciones del gen MBL en la región promotora (H/L y X/Y), en la región 5'UTR (P /Q) Y en la parte traducida del exón 1 (A, B, C y D), determinan los 4 puntos del genotipo MBL (Fig. 1). La combinación (haplotipos) HYPA, LYPA, LYQA Y LXPA son variantes que producen diferentes niveles considerados normales de la lectina, mientras que LYPB, LYQC y HYPD son haplotipos defectuosos en la producción de MBL. Estudios comparativos de poblaciones realizados en Europa, Asia y África indican que la deficiencia o bajos niveles séricos de MBL predispone a algunas infecciones recurrentes ya enfermedades autoinmunes (3,4,5,6).

Estudios realizados en los extremos norte y sur del continente americano, determinaron la predominancia de los haplotipos HYPA en esquimales (Alaska) y chiriguano (Argentina) mientras que LYPB predomina en mapuches (Argentina) con 0.46 (2). Nuestro resultado de 0.58 concuerda con la predominancia del haplotipo LYPB en AnapiaSuana, siendo hasta ahora la población con la mas alta proporción de este haplotipo considerado defectuoso.

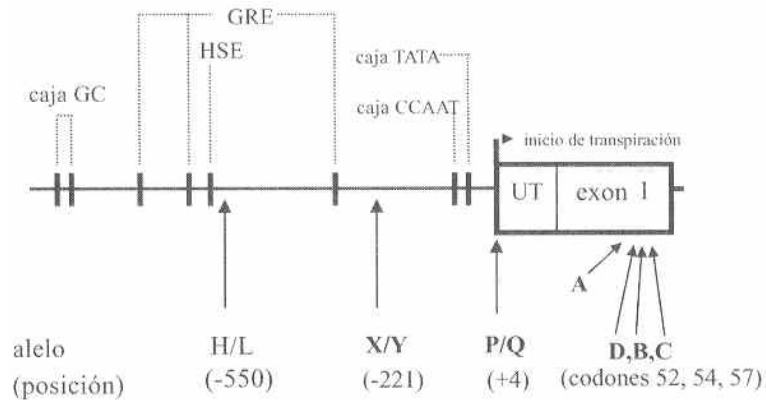
La frecuencia de variantes genéticas desfavorables normalmente debe ser baja en la población, debido a la presión selectiva. Sin embargo, algunas variantes que son consideradas deficientes podrían ser favorables en circunstancias especiales. La importancia de este estudio se debe a que las infecciones constituyen una de las causas más frecuentes de morbilidad y mortalidad en países en

\* Instituto de Genética y Biología Molecular, Facultad de Medicina de la Universidad de San Martín de Porres

\*\* Department of Clinical Immunology, National University Hospital, Copenhagen, Denmark

desarrollo como el nuestro. Por tal razón, conocer variantes de genes de susceptibilidad a infecciones será tan importante en la medicina del futuro como conocer al patógeno para diseñar estrategias de prevención.

**Fig. 1.-** Esquema del promotor y del exón 1 del gen MBL (mannose binding lectin, localizado en 10q11.2-q21). Las flechas indican la posición de los sitios polimórficos. Las líneas punteadas indican los elementos del promotor que participan en la regulación de la expresión génica. GRE = glucocorticoid response element; HSE = heat shock element; UT = región no traducido a aminoácidos. (modificado de Madsen et al 1995).



## MATERIALES Y METODOS

Las muestras fueron tomadas con consentimiento voluntario, a partir de sangre periférica, y se efectuó a fines de 1998 incluyendo a 19 individuos de 10 a 18 años de edad, del C.E.S. Anapia. La extracción de DNA de linfocitos se efectuó por una técnica simplificada (7). Por medio de la técnica SSP-PCR (sequence specific priming - PCR, ref. 1) se amplificaron sectores específicos del gen MBL en un termociclador. Los primers (segmentos iniciadores sintéticos de DNA) utilizados corresponden a los indicados por Madsen y col, 1995 (1). Los productos de SSP-PCR fueron separados por electroforesis en geles de agarosa (2 %) teñidos en solución de bromuro de etidio, analizadas con luz UV y registradas digitalmente (ver figura 2). Para la determinación de las frecuencias de las variantes de MBL en el grupo representativo de Anapia-Suana se utilizó el test de equilibrio alélico de Hardy-Weinberg que indica si una población está en equilibrio (8).

**Fig. 2.-** Electroforegrama. Haplotipo LYPB del gen MBL (mannose binding lectin), visualizado en gel de agarosa (2%). Perfil genético de un poblador de Anapia-Suana.

1-12 = reacciones SSP-PCR para cada sitio polimórfico.

c = DNA control interno de reacción (~ 400 bp del exón 4)

p = DNA de reacción positiva



## RESULTADOS

En el cuadro 1 se muestra el total de genotipos observados en las islas Anapia-Suana. Los datos nos indican que hubo seis personas homocigotas para LYPB, nueve personas heterocigotas para LYPB/HYPA, tres homocigotas HYPA/HYPA y una heterocigota LYPB/LYPA. A través del análisis de Hardy-Weinberg y el test  $\chi^2$ , demostramos que hay equilibrio alélico, implicando que sus flujos génicos han permanecido sin muchos cambios durante varias generaciones.

**Cuadro 1.-** Total de genotipos MBL observados y su distribución en las islas Anapia-Suana del Lago Titicaca.

LYPB*LYPB		LYPB*HYPA		HYPA*HYPA		LYPB*LYPA		$\chi^2(P>.05)$
No	Ne	No	Ne	No	Ne	No	Ne	
6	6.39	9	8.81	3	3.04	1	0.44	0.739

No - cantidad observada

Ne - cantidad esperada (obtenida por la fórmula de Hardy-Weinberg)

$\chi^2$  - suma de "ji" cuadrado

Asimismo, la distribución de sus frecuencias haplotípicas se muestra en el cuadro 2 donde se ve claramente que el haplotipo predominante es el LYPB con 0.58 seguido por HYPA con 0.40 y LYPA 0.02.

**Cuadro 2.-** Distribución de frecuencias de los haplotipos del gen MBL en Anapia-Suana del Lago Titicaca.

Haplotipo MBL	Frecuencia
LYPB	0.58
HYPA	0.40
LYPA	0.02

**Cuadro 3.-** Comparación de frecuencias de variantes haplotípicas del gen MBL entre tres poblaciones sudamericanas

Haplotipos	Anapia-Suana	Mapuches	Chiriguanos
LYPB	0.58	0.46	0.42
HYPA	0.40	0.38	0.54
LYPA	0.02	0.08	0.02

## DISCUSION

Estudios previos realizados en muestras de poblaciones nativas americanas muestran que el haplotipo LYPB es frecuente en mapuches con una proporción de 0.46 (2). Nuestros estudios confirman la predominancia de LYPB en otra población sudamericana y registran una frecuencia más alta (0.58) en las islas de Anapia-Suana que en los mapuches (cuadro 3).

Análogamente, en algunas poblaciones africanas predomina el haplotipo defectuoso LYQC. Se especula que esto podría estar relacionado con la defensa del organismo humano contra un tipo de patógeno aún no determinado (selección natural).

Casos similares de proteínas mutantes que confieren protección han sido extensivamente estudiados en los portadores de variantes defectuosas del gen de G6PD (glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa) o de la globina b quienes están protegidos relativamente contra la malaria. Hay indicios recientes que no siempre la baja concentración de MBL sérica es desventajosa, se ha sugerido que esta proteína facilita la infección de algunos patógenos intracelulares, por lo que podría ser desventajoso tener variantes genéticas con niveles "normales" de la proteína MBL (9).

Los estudios futuros nuestros y de otros autores permitirán determinar la composición genética de las diferentes poblaciones de nuestro territorio así como la correlación con distintos agentes patógenos. Por lo que proponemos, habría que tener en cuenta las variantes genéticas en las distintas poblaciones para futuras estrategias de prevención a enfermedades infecciosas.

## CONCLUSIONES

La distribución de los haplotipos MBL observados en los pobladores de las islas Anapia-Suana del Lago Titicaca se encuentra en equilibrio según lo esperado por el principio de Hardy-Weinberg. Encontramos elevada frecuencia del haplotipo defectuoso LYPB en Anapia-Suana, siendo el más alto registrado a la fecha. La presencia tan alta de este haplotipo nos sugiere que los patógenos que atacan a los pobladores en esta zona deben ser diferentes o posiblemente este haplotipo los proteja en circunstancias aún desconocidas.

## BIBLIOGRAFIA

---

1. Madsen HO, Garred P, Thiel S y col. Interplay Between Promoter and Structural Gene Variants Control Basal Serum Level of Mannan-Binding Protein. *J Immunol*, 155:3013-3020. 1995.
2. Madsen HO, Satz ML, Høgh B y col. Different Molecular Events Result in Low Protein Levels of Mannan-Binding Lectin in Populations from Southeast Africa and South America. *J Immunol*, 161:3169-3175. 1998.
3. Garred P, Madsen HO, Halberg P y col. Mannose- Binding lectin polymorphisms and susceptibility to infection in systemic lupus erythematosus. *American College of Rheumatology*, V42, N10:2145-2152. 1999.
4. Garred P, Madsen HO, Balslev U y col. Susceptibility to HIV infection and progression of AIDS in relation to variant alleles of mannose-binding lectin. *Lancet*, 349:236-240.
5. Garred P, Pressler T, Madsen HO y col. Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis. *J. Clin. Invest*, 104:431-437. 1999.
6. Graudal N, Homann C, Madsen HO y col. Mannan-binding lectin in rheumatoid arthritis: a longitudinal study. *J. Rheumatol*, 25 :629. 1997.
7. Fujita R Localisation du gene de l'ataxie de Friedreich par sa liaison génétique et physique avec les loci D9S5 et D9S15. These de Docteur de l'Universite Louis Pasteur de Strasbourg, France, 80 p. 1991.
8. Weir BS *Genetic Data Analysis. Methods for Discrete Population Genetic Data*. Sinauer Associates, Inc. Publishers, 377 p. 1990.
9. Garred P, Madsen HO, Kurtzhals JA y col. Diallelic polymorphism may explain variations of the blood concentration of mannann-binding protein in Eskimos, but not in black Africans. *Eur.J. Immunogenet*, 19:403. 1992.