

## DISTRIBUCION DE LOS FENOTIPOS Y GENOTIPOS DEL SISTEMA LEWIS EN COSTA RICA

Rocío León Sánchez\*, Rafael Marín Rojas\*\*, Ana I. Morales Cordero\*\*\*

### RESUMEN

Se analizaron 500 muestras de sangre pertenecientes a individuos provenientes de diferentes áreas del territorio costarricense, para investigar la distribución de los fenotipos y genotipos del Sistema Lewis. Se encontró un 84.20% de Lewis y 15.8% de no-Lewis, que corresponden a una frecuencia genotípica de 36.3% para Le/Le, 47.9% para Le/le y 15.8% para le/le, lo cual implica una frecuencia alélica de 0.6025 para Ley 0.3975 para le.

A un nivel de significatividad de 0.05 y 2 grados de libertad, el valor de  $\chi^2 = 5.991$  ( $p > 0.05$ ), lo que indica que no hay diferencias estadísticamente significativas entre la distribución observada y la esperada, de acuerdo a la ley de Hardy-Weinberg. Esta distribución observada nos indica que este sistema tiene cierta importancia en clínica pero muy poca importancia médico - legal. (Rev. Cost. Cienc. Méd. 1995; 16(1,2):(33-37).

### SUMMARY:

500 blood samples from different areas of Costa Rica analyzed in order to investigate the Lewis System Phenotype and Genotype's distribution. 84,20% of Lewis and 15,8% of non-Lewis, belong to a genotypical frequency of 36,3% for Le/Le, 47,9% for Le/le and 15,8% for le/le; this implies an allelic frequency of

0,6025 for Le and 0,3975 for le.

To a significance level of 0.05 and 2 degrees of freedom, the  $\chi^2 = 5,991$  value ( $p > 0,05$ ) which indicates that there are no significant differences between the expected distribution and the one found according to the Hardy-Weinberg's Law. This distribution indicates that this system has certain clinical importance but little medical-legal importance.

### INTRODUCCION:

Los antígenos Lewis no son intrínsecos de los glóbulos rojos, sino que son sintetizados por células tisulares y secretados en los fluidos orgánicos. En el plasma son transportados como glicoesfingolípidos de donde son absorbidos en la membrana de los eritrocitos. Su presencia o ausencia en el plasma y en los glóbulos rojos es dependiente en parte de la herencia de los genes de Lewis (Le), de los genes secretores (Se) y de los genes ABH(1).

El gen Le codifica para la síntesis de la enzima Alfa-1-4-Fucosiltransferasa (FT) la cual agrega una molécula de L-Fucosa a la sustancia básica precursora. La nueva estructura formada se conoce como sustancia Le<sup>a</sup> a la que a su vez es responsable del fenotipo Le (a+b-) en los glóbulos rojos. La producción del antígeno Lea no requiere de la presencia de la sustancia H (2).

Los genes Se/se, ABO, Hh y Lewis aunque son independientes están íntimamente relacionados en la formación

\* Banco de sangre, Hospital San Juan de Dios, CCSS.  
\*\* Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios, CCSS  
\*\*\* Laboratorio de Inmunohematología, Poder Judicial

del antígeno  $Le^b$  el cual se absorbe, preferencialmente, a la membrana de los glóbulos rojos dando el fenotipo  $Le(a-b+)$ . Ha sido postulado que bajo el control del gen  $Se$  regulador y el gen  $H$  estructural codifica la producción de la enzima Alfa-2-L-Fucosiltransferasa, la cual agrega una molécula de L-Fucosa a la sustancia precursora tipo 1, produciéndose así la sustancia  $H$ . El gen  $Le$  por medio de la Alfa (1-4) FT específica ordena la adición de otra molécula de L-Fucosa a la sustancia  $H$ , formándose así el antígeno  $Le^b$  (3).

La enzima Lewis transfiere una molécula de L-Fucosa en un enlace Alfa (1-3) a la N-Acetil-Glucosamina de la sustancia precursora tipo 2 y  $H$  tipo 2, produciéndose respectivamente los antígenos  $Le^x$  y  $Le^y$ . Al año de vida los antígenos  $Le^a$ ,  $Le^b$  y  $Le^y$  están plenamente expresados en la saliva, pero sobre los eritrocitos solamente aparece  $Le^x$ . En el recién nacido, el fenotipo eritrocitario es  $Le(a-b-x+)$ ; aproximadamente a los diez días aparece el antígeno  $Le^a$  sobre los glóbulos rojos de los infantes; alrededor de los dos meses se expresa el  $Le^b$ , en los ABH-secretores.

El fenotipo  $Le(a^+ b^+ x^+)$  puede perdurar por algún tiempo hasta los siete o catorce años (4). Henry y otros describen la existencia del fenotipo  $Le(a+b+)$  en polinesios y los relacionan a la existencia de un gen Secretor débil (5).

La ausencia del gen  $Le$ , o sea la presencia de dos genes amorfos  $le/le$ , nos conducen al tercer fenotipo denominado  $Le(a-b-)$  o no-Lewis.

Según Le Pendu y otros, existe una competencia entre las enzimas codificadas por los genes ABH y Lewis por el sustrato común: el precursor de cadena tipo 1. En los Lewis positivo ABH-secretores, la sustancia precursora se convierte en estructuras  $H$  o  $Le^a$  y a su

vez, estas sustancias bajo el efecto de las transferasas específicas pueden transformarse en sustancias  $A$  o  $B$  y  $Le^b$ , respectivamente. (6)

El fenotipo Lewis puede variar en ciertas condiciones como el embarazo, cirrosis alcohólica y algunos carcinomas (7).

Se ha observado que en algunas metaplasias la expresión del antígeno  $Le^b$  disminuye en contraste con la potenciación de los antígenos  $Le^a$ ,  $Le^x$  y  $Le^y$ ; esto sugiere patrones de fucosilación alterados en las células malignas y refleja a su vez el grado de malignidad y/o invasividad del cáncer. (8, 9, 10, 11, 12)

El sistema Lewis tiene cierta importancia clínica y médico-legal ya que personas no-Lewis ( $le/le$ ) pueden inmunizarse contra los antígenos  $Le^a$  o  $Le^b$  y sufrir posibles reacciones postransfusionales (13). A nivel médico-forense, este sistema se utiliza como marcador genético en caso de paternidad discutida y delitos sexuales.

Por lo expuesto anteriormente nos propusimos estudiar la distribución de fenotipos y genotipos del sistema Lewis en la población de Costa Rica.

## MATERIALES Y METODOS

Muestras de sangre de 500 individuos fueron recolectadas durante un período de 2 años (1992-1994) en el laboratorio de Inmunohematología del Poder Judicial de San José, Costa Rica.

El tamaño de la muestra se determinó utilizando la fórmula  $n = z^2 pq / d^2$ , donde  $q = 1 - p$  (14). Para un coeficiente de confiabilidad del 95%,  $z = 1.96$ ,  $d = 0.04383$ , con  $p$  y  $q$  a su máximo valor de 0.5, se obtiene una muestra de 499.92, o sea  $n = 500$ . Las personas analizadas fueron adultos provenientes de diferentes regiones de Costa Rica, sin relación aparente de consanguinidad.

La determinación del fenotipo

eritrocítico "Lewis" y "no-Lewis", se realizó mediante la técnica de aglutinación en tubo (2), utilizando suspensiones de glóbulos rojos al 3% y con los debidos controles.

El cálculo de los genotipos se basó en la ley de Hardy-Weinberg (15, 16, 17)

Los datos obtenidos se confrontaron con la distribución esperada aplicando la prueba estadística conocida como "Bondad de Ajuste" (14, 17).

## RESULTADOS

En el cuadro número 1 observamos los porcentajes encontrados y esperados de los fenotipos del Sistema Lewis en la muestra analizada. El fenotipo Le (a+b) se presenta en un 11.60%, el Le (a-b+) en un 72.60% y el Le (a-b-) en un 15.80%. Las cifras esperadas eran de 11.75%, 72,45% y de 15,80%, respectivamente.

En el cuadro número 2 se presenta la frecuencia genotípica de este siste-

ma en la población costarricense: un 36.30% de homocigotas LeLe, un 47.90% de heterocigotas Lele y un 15.80% de homocigotas recesivos lele. La suma de los dos primeros nos da un 84,2% de genotipos Lewis contra un 15.80% de no-Lewis. Del porcentaje de Lewis homocigotas ( $p^2$ ): 47,90% derivamos la frecuencia del gen Le: 0,6025. Del porcentaje de recesivos( $q^2$ ): 15,80% o de la fórmula  $p+q=1$  derivamos la frecuencia del gen le: 0,3975.

Los datos obtenidos son muy similares a los encontrados en el sistema secretor en nuestro país, donde encontramos una frecuencia de 0,6264 para el gen Se y de 0,3736 para el gen se. Estas frecuencias condicionan la distribución fenotípica del sistema Lewis como ya se explicó anteriormente y como se muestra en el cuadro No. 1.

En el cuadro No. 3 se muestra el análisis estadístico de la prueba de Bondad de Ajuste con la cual se obtiene  $\chi^2$  calculada de 0,0197 con dos grados de libertad.

CUADRO N° 1			
Distribución Fenotípica del sistema Lewis en Costa Rica			
Fenotipos	Número	Encontrado %	Esperado %
Le (a+b-): Le <sup>a</sup>	58	11,60%	11,75%
Le (a-b+): Le <sup>b</sup>	363	72,60%	72,45%
Le (a-b-): le	79	15,80%	15,80%
<b>Total</b>	<b>500</b>	<b>100,00%</b>	<b>100,00%</b>

CUADRO N° 2		
Distribución Genotípica del Sistema Lewis en Costa Rica		
Genotipo	Número	Porcentaje
Le Le	181	36,30%
Le le	240	47,90%
le le	79	15,80%
<b>Total</b>	<b>500</b>	<b>100,00%</b>

CUADRO N° 3						
Análisis de Bondad de Ajuste						
Fenotipos	N° Oi	N° Ei	F Oi	F Ei	Oi-Ei	$\frac{(N° Oi - N° Ei)^2}{N° Ei}$
Le Le	58	59	0,3630	0,3631	-1	0,0169
Le le	363	362	0,4790	0,4789	+1	0,0028
le le	79	79	0,1580	0,1580	0	0,0000
Total	500	500	1,0000	1,0000	0	$\chi^2 = 0,0197$

N° Oi = Número observado  
 N° Ei = Número esperado  
 F Ei = Frecuencia esperada  
 F Oi = Frecuencia observada

#### DISCUSION:

Aun nivel de significatividad de 0.05 y dos grados de libertad, el valor crítico de  $\chi^2 = 5.991$ , el valor crítico de  $\chi^2$  calculado = 0.0197, lo cual nos indica que no hay diferencias estadísticamente significativas en la distribución de los genes del sistema Lewis en la población costarricense y la distribución esperada de los mismos según la ley de Hardy-Weinberg y por lo tanto  $p > 0.05$ .

Como ya se ha dicho, los sistemas secretor y Lewis están íntimamente correlacionadas y genéticamente son similares: ambos constan de un gen dominante y uno recesivo (18). En Costa Rica, su semejanza va más allá pues su distribución en la población es casi idéntica, 86.04% de personas Secretoras y 84.20% de población Lewis. La alta frecuencia de personas secretoras y Lewis condiciona a su vez la alta tasa del fenotipo Le (a-b+) ya que el 86.04% de las personas Lewis (84.20%) serán de este fenotipo: 72.60% (población Lewis-Secretora), mientras que un 13.96% de ellos serán del fenotipo Le (a+b-): 11.75% (población Lewis-no Secretora) por no heredar el gene Se (se/se). Por último, un 15.80% serán del fenotipo le(a-b-) por no heredar el gen Lewis, independien-

temente del genotipo secretor, como se puede apreciar en el cuadro número uno.

Para completar los datos interrelacionados de estos dos sistemas, obtenemos que el 15.80% de la población no-Lewis, un 13.60% será secretora (no Lewis, secretores) y un 2.20% será no secretor (no-Lewis, no-Secretores).

Los resultados obtenidos en Costa Rica difieren de los encontrados en estudios realizados en Estados Unidos, en grupos caucasoides se obtiene un 82.10% de Lewis positivo contra 17.90% de no-Lewis, en negros 76.20% son Lewis y 23.80% no-Lewis y en chinos 94.10% son Lewis positivo contra 5.90% no-Lewis (19).

La importancia clínica de este sistema es relativa ya que la mayoría de las personas no-Lewis que se inmunizan producen anticuerpos tipo IgM sin consecuencias clínicas; sin embargo, existe un porcentaje de ellos que forma anticuerpos que reaccionan a 37 grados, o con antiglobulina, lo que nos debe mantener en expectativa de que se pueda presentar una reacción post-transfusional en este tipo de pacientes.

A nivel médico-legal sin embargo, su importancia es mínima, ya que un 84.20% de Lewis positivos contra un 15.80% de no-Lewis, nos da una capacidad de exclusión muy baja (20).

## BIBLIOGRAFÍA

- 1- Linares, J. *Inmunoematología y Transfusión. Principios y Procedimientos*. Editorial Cromotip CA, Caracas, Venezuela, 1986; 132- 135.
- 2- American Association of Blood Banks. *Technical Manual*. J.B. Lippincott, Company, Philadelphia, U. S. A. 10 ed, 1990; 188-190, 541-542.
- 3- Salmon, Ch. and Cartron, J. IN: *CRC Handbook Series in clinical laboratory science. Blood Banking*. CRC Press, Inc., Florida U.S.A. vol 1 1977; 309-340.
- 4- Marín R. *Inmunoematología. Manual de Laboratorio*. Editorial Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, 2 ed, 1981; 18-22.
- 5- Henry S.M., Benny A.G. and Woodfield D. G. Investigation of Lewis Phenotypes in Polynesians: Evidence of a Weak Secretor Phenotype. *Vox Sanguinis*. 1990; 58:61-66
- 6- Le Pendu J. Lemieux R.U., Dalix A. M., Lambert F. and Oriol R. competition between ABO and Le Gene Specified Enzymes. I.A. Lewis related difference in the amount of A antigen in saliva of A<sup>1</sup> and A<sup>2</sup> secretors. *Vox Sanguinis*. 1983; 45: 349-358.
- 7- Kobayashi K., Sakamoto J., Yamamura Y., Kito T., Inagaki H., Watanabe T and Nakasato H. The expression of the blood related antigens in intestinal metaplasia of the stomach in gastric cancer. *Nippon-Gekkai-Zasshi*. 1991 Jul; 92 (7): 813-819.
- 8- Idikio H. A. and Manickavel V. Lewis blood group antigens (a and b) in human breast tissues. Loss of Lewis b in breast cancer cells and correlation with tumor grade. *Cancer* 1991 Sep 15; 68 (6): 1303-1308.
- 9- Orntoft T.F., Greenwell P., Clausen H. and Watkins W. M. Regulation of the oncodevelopmental expression of type I chain ABH and Lewis b blood group antigens in human colon by alpha-2-1-fucosylation. *Gut*. 1991 mar; 32 (3): 287-293.
- 10- Nakagoe T., Fukushima K., Hirota M. Kusano H. Ayabe H. Tomita M. and Kamihira S. Immunohistochemical expression of blood group substance and related carbohydrate antigens in breast carcinoma. *Jpn-J-Cancer-Res*. 1991 May; 82 (5): 559-568.
- 11- Cooper H.S., Malecha M.J., Bass C., Fagel P. L. and Steplewskiz. Expression of blood group antigens H-2, Le (y) and sialylated - Le (a) in human colon rectal carcinoma. An immunohistochemical Study using double-labeling techniques *Am-jpathology* 1991 Jan, 138(1); 103-110.
- 12- Alvarez-Fernández E. and Carretero-Albinona L. Expression of blood group antigens by normal bronchopulmonary tissues and common forms of pulmonary carcinomas. *Arch-Pathol-Lab-Med.*; 1991 Jan; 115 (1): 42-49.

- 13- Waheed A., Kennedy M.S. and Gerham S. Transfusion significance of Lewis System antibodies. Report on a Nation Wide Survey. *Transfusion*. 1981 Sept-Oct; 21(5): 542-545.
- 14- Daniel W. *Bioestadística*. Editorial Limusa - Noriega, México D. E. 3 ed., 1990; 202-232-452-502.
- 15- Kirby, T.L. *DNA Fingerprinting* Stockton Press, New York. 1990;149-177.
- 16- Thompson and Thompson M. *Genetics in Medicine*. W. B. Saunders Company, Philadelphia, 3 ed 1980; 290-306.
- 17- Wallace . *Basic Population Genetics*. Columbia University Press, New York, 1981; 95-121.
- 18- León A. R., Marín R. A., Bonilla C. y Chacón G. Distribución de los fenotipos y genotipos del sistema secretor en la población de Costa Rica. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas* (en prensa) 1994; 15(1,2).
- 19- Gaensslen, R. E.; Bell, S y Lee, H. Distributions of Genetic Markers in United States Populations: I. Blood Group and Secretor Systems. *JFSCA*. 1987 Jul; 32 (4): 1016-1058.
- 20- Walker R. IN: *Paternity Testing*. Editorial American Association of Blood Banks, Louisiana U.S.A. 1978; 69-123.