

Antropología, genética y epidemiología del grupo sanguíneo eritrocitario Duffy. Un enfoque multidisciplinar

PÉREZ-GARCÍA A.M., HERNÁNDEZ C.L, SÁNCHEZ-MARTÍNEZ L.J. Y CALDERÓN R.

Unidad de Antropología Física. Departamento de Biodiversidad, Ecología y Evolución. Facultad de CC Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. 28040. Madrid. España.

Corresponding Author: rcalfer@bio.ucm.es

RESUMEN

El sistema Duffy fue el primer grupo sanguíneo cuyo *locus* fue asignado a un cromosoma autosómico en el hombre. Su producto génico, la glicoproteína Duffy (gp-FY), actúa como antígeno eritrocitario y receptor de quimiocinas, de ahí que al gen *FY* se le conozca también como el gen *DARC* (*Duffy Antigen Receptor for Chemokines*). Los tres alelos principales Duffy: *FY*A*, *FY*B* y *FY*O* muestran patrones de distribución geográfica distintivos entre las poblaciones humanas continentales, singularmente, el *FY*O*. El fenotipo serológico Fy(a-b-) o Duffy-negativo (*FY*O/FY*O*) conduce a la carencia de expresión antigénica Duffy en los glóbulos rojos. Los individuos portadores de esta condición presentan una resistencia casi total a la malaria “*vivax*”. En la vertiente occidental y central del África subsahariana, este tipo de malaria ha sido endémica desde tiempos antiguos, lo que ha provocado que el alelo *FY*O* registre en esas áreas geográficas frecuencias próximas a la fijación (~100%). La relación entre la malaria “*vivax*” y los antígenos Duffy ha sido calificada como una de las interacciones más sorprendentes entre una enfermedad infecciosa y un rasgo genético. En la actualidad, continúa siendo motivo de debate el impacto de las mezclas biológicas y de sus ancestrías, por constituir estos escenarios una fuente de especial importancia de la variación genética adaptativa, y de la respuesta inmune en los humanos. Estas observaciones derivadas de la investigación nos estarían indicando el importante papel que tiene la genética sobre las enfermedades infecciosas, así como los factores de riesgos asociados a ciertas poblaciones humanas con una propia composición genética. Dentro de este contexto, el polimorfismo del grupo sanguíneo Duffy está demostrando ser un factor relevante.

Palabras claves:

Polimorfismo Eritrocitarios
Plasmodium vivax
Malaria y Duffy-nulo
Mezclas poblacionales
Enfermedades infecciosas
Composiciones Genéticas
Humanas

Recibido: 11-11-2021

Aceptado: 25-01-2022

ABSTRACT

The Duffy system was the first blood group whose *locus* was assigned to an autosomal chromosome in man. Its gene product, the FY glycoprotein (FY-gp), acts as an erythrocyte antigen as well as a chemokines receptor. Hence, the *FY* gene is also known as *DARC* (*Duffy Antigen Receptor for Chemokines*). The Duffy blood group gene contains three major alleles *FY*A*, *FY*B* and *FY*O* which display distinctive geographic patterns, particularly, the distribution of *FY*O* allele frequencies among contemporaneous continental human populations. The serological phenotype Fy (a-b-) or Duffy-negative (*FY*O/FY*O*) lacks of Duffy antigen expression in red blood cells. Individuals with such condition show a nearly total resistance to the malaria “*vivax*”. In western and central Africa where this type of malaria has been endemic since past times, the *FY*O* allele registers today frequencies close to fixation (~100%). The relationship between malaria “*vivax*” and Duffy antigens has been assumed as one of the most surprising interactions between an infectious disease and a genetic trait. Nowadays, there is still a longstanding debate about the impact of population admixtures and ancestries. These episodes constitute sources of particular importance for understanding adaptive genetic variations and immune responses in humans. These observations, rising from research, would be underlining the crucial role that the genetics has on infectious diseases along with risks associated to different human genetic compositions. In this frame, the *FY* gene polymorphism is becoming a relevant factor.

Keywords:

Erythrocyte Polymorphisms
Plasmodium vivax
Malaria and “null” Duffy
Human Migrations
Population Admixtures
Infectious Diseases
Human Genetic
Compositions

Introducción

Uno de los objetivos esenciales de la Antropología Física (o Biológica) es reconstruir la historia evolutiva humana y los datos genéticos están proporcionando valiosas y decisivas contribuciones en esa dirección (Cann, Stoneking y Wilson, 1987; Cavalli-Sforza, Menozzi y Piazza, 1994; Tishkoff y Verrelli, 2003; Pakendorf y Stoneking, 2005; Veeramah y Hammer, 2014; Llamas et al., 2016; Fan et al., 2019, entre otros). La enorme información existente hoy en día sobre patrones de variación genética entre las poblaciones humanas contemporáneas está siendo, además, recurrentemente relacionada con enfermedades y sus patrones geográficos (Ku et al., 2010; Vasseur y Quintana-Murci, 2013; Prohaska et al., 2019). Desde los comienzos del siglo XX ya se empezó a conocer la estructura del genoma del *Homo sapiens*. Estos estudios han estado marcados por dos grandes etapas. La primera, corresponde al período de los descubrimientos de los denominados polimorfismos o marcadores genéticos “clásicos”; la segunda, al de los marcadores moleculares o de ADN. El análisis de la variación de las secuencias de ADN ha permitido la identificación de muchos nuevos polimorfismos hereditarios (Schlötterer, 2004).

Las investigaciones cuyo objetivo es conocer la magnitud de la variación normal y mórbida del patrimonio genético humano han permitido demostrar: *i*). Que un gran componente de la variación genética humana es polimórfica, *ii*). Que los patrones espaciales de variación genética en la especie humana son amplios y la distribución del polimorfismo genético ubicuo y, *iii*). Que la variabilidad genética intrapoblacional es mucho más alta cuando se la compara con la interpoblacional, en unas proporciones estimadas alrededor del 85% y 15%, respectivamente (Lewontin, 1972). La cronología de los descubrimientos de los polimorfismos “clásicos” se extendió desde los primeros años del pasado siglo XX hasta finales de la década de los sesenta. Su historia nos revela momentos de gran intensidad seguidos por otros de relativa ralentización o calma. Dentro de la gran categoría de polimorfismos genéticos tradicionales detectados en la sangre humana, se han incluido tradicionalmente a los grupos sanguíneos, las proteínas séricas o plasmáticas, las isoenzimas eritrocitarias, los alotipos de las

inmunoglobulinas (GM, KM y otros) y los antígenos leucocitarios humanos, conocidos como HLA (*Human Leucocyte Antigens*).

Durante la primera mitad del siglo XX, la enorme cantidad de datos genéticos que se fueron acumulando de muchas poblaciones continentales diferentes permitió la utilización de esa información para reconstruir la historia genética humana a una escala global (ver Cavalli-Sforza, Menozzi y Piazza, 1994). En este contexto, y con la idea de ir adquiriendo más conocimientos sobre ese atractivo problema antropológico, se empezó a asumir que para un correcto tratamiento de los datos genéticos se necesitaba, no solo manejar resultados sobre frecuencias alélicas, sino también conocer las características de la población o de las poblaciones bajo estudio. Esto es, sus orígenes familiares o ancestría, sus patrones demográficos y socio-culturales, su geografía, sus tipos de poblamiento y modelos de asentamiento, etc. Todos esos factores, no necesariamente biológicos, han ido modelando el cambio evolutivo durante cientos de generaciones y sus efectos se están valorando mediante el uso de métodos matemáticos, estadísticos y bioinformáticos. El primer marcador genético descubierto en el hombre fue el sistema sanguíneo *ABO* en 1900 por Karl Landsteiner. Unos pocos años más tarde (1911), se puso de manifiesto que el gen *A* estaba constituido por dos subtipos alélicos: *A1* y *A2* con una clara relación entre ellos de dominancia/recesividad. Von Dungen y Hirschfeld (1910), utilizando grupos familiares, demostraron que los alelos *A* y *B* se heredaban con carácter dominante, mientras que el *O* manifestaba una expresión de recesividad. La constatación de la herencia del *ABO*, como un ejemplo de rasgo mendeliano, se fue trasladando al resto de grupos sanguíneos (Storry y Olsson, 2004).

La primera aplicación del *locus ABO* con un enfoque antropológico (poblacional) fue llevada a cabo por el matrimonio Hirschfeld, quienes durante la I Guerra Mundial (1914-1918) tuvieron la oportunidad de analizar –en la ciudad griega de Tesalónica– un importante número de muestras sanguíneas tomadas a soldados provenientes de muy diferentes regiones geográficas (ver Mourant, 1954, p.9). Los resultados de ese estudio (Hirschfeld y Hirschfeld, 1919) permitieron demostrar, por vez primera, la enorme importancia de explorar los patrones de variación espacial de las

frecuencias de los grupos sanguíneos en diferentes poblaciones humanas. En otras palabras, fue el primer trabajo que permitió mostrar la diversidad genética humana (Bodmer, 2015). A lo largo de las décadas de 1940 y 1950, el número de grupos sanguíneos eritrocitarios se incrementó de forma notable y entre los nuevos *loci* genéticos descubiertos estaban el *MNS*, *P*, *RH* (*RHESUS*), Lutheran (*LU*) y Duffy (*FY*). Haciendo especial referencia al sistema Duffy, por ser objeto del presente trabajo, el primer antígeno de especificidad Duffy (*Fy^a*) fue identificado sobre la membrana de los glóbulos rojos por Cutbush et al. (1950). El procedimiento fue sencillo y consistió en el uso de alo-antisueros (alo-anticuerpos) producidos por un paciente hemofílico al que se le habían practicado múltiples transfusiones. Un año más tarde, se descubrió el anticuerpo antitético Anti-*Fy^b* (Ikin et al., 1951). De hecho, muchos de los polimorfismos genéticos detectados con anterioridad al grupo sanguíneo Duffy fueron asimismo caracterizados mediante reacciones serológicas cruzadas. El concepto de anticuerpo antitético se refiere a aquellos que reconocen a su vez antígenos, los cuales son el resultado o producto de genes que entre sí son alelos.

Los primeros estudios poblacionales sobre frecuencias y patrones de variación geográfica de los alelos Duffy (*FY*) en Europa, pusieron de manifiesto la menor incidencia del alelo *FY*A* (35%) frente a la del *FY*B* (65%). Posteriores análisis de muestras sanguíneas obtenidas de donantes de origen afroamericano permitió curiosamente observar que ~68% de esas muestras no reaccionaron con anticuerpos de especificidad Anti-*Fy^a* y, tampoco con Anti-*Fy^b* (Sanger et al., 1955). Con esos resultados, se empezó a confirmar en otras muestras de individuos con similares orígenes geográficos-familiares que el fenotipo *Fy(a-b-)* o Duffy negativo o “nulo” también se heredaba de forma mendeliana, pero con la particularidad añadida que las personas identificadas con ese fenotipo presentaban una alta resistencia a la malaria y, específicamente, a la causada por el parásito (protozoo) *Plasmodium vivax*. Las técnicas de electroforesis utilizadas profusamente a partir de la década de 1960 permitieron asimismo desvelar una gran cantidad de variación genética humana asociada a marcadores proteicos polimórficos (isoenzimas eritrocitarias y proteínas plasmáticas). La aplicación de

estos procedimientos de carácter bioquímico, con diferentes niveles de resolución, permitió poner en evidencia que el uso de los polimorfismos proteicos en los estudios poblacionales con enfoques filogenéticos, presentaba una ventaja en relación con la derivada de los grupos sanguíneos convencionales, en la medida que los marcadores proteicos son productos directos de genes mientras que los grupos sanguíneos no presentan esa condición.

A lo largo del siglo XX, la disponibilidad de resultados sobre frecuencias alélicas clásicas ha venido acumulándose de manera significativa, mostrando los grupos sanguíneos una posición hegemónica. En el proceso de recopilación de información genética se observó claramente que el número de entradas referidas, por ejemplo, al grupo sanguíneo *ABO* era del orden de 100 veces superior en comparación al sistema HLA. Las bases de datos publicadas más relevantes sobre polimorfismos genéticos clásicos han sido las construidas por Mourant (1954); Mourant, Kopec y Domaniewska-Sobczak (1976); Steinberg y Cook (1981); Tills, Kopec y Tills (1983); Roychoudhury y Nei (1988), Cavalli-Sforza, Menozzi y Piazza (1994). Las dos últimas son las más completas en la medida que incluyen un amplio espectro de muestras, poblaciones y *loci* genéticos. La Figura 1 presenta una aproximación del número de artículos publicados en el periodo 2000-2021 sobre el sistema sanguíneo Duffy, haciendo uso de un grupo determinado de palabras clave (*keywords*). La serie temporal construida se ha implementado con un análisis predictivo acerca de la producción científica esperada sobre este marcador genético en el próximo lustro (2021-2025). El uso paulatino de las técnicas moleculares aplicadas en el análisis del ADN a finales de los años setenta ha permitido descubrir otros polimorfismos altamente informativos en el genoma humano como los minisatélites o VNTRs (*Variable Number of Tandem Repeats*); microsatélites o STRs (*Short Tandem Repeats*); polimorfismos de un solo nucleótido o SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*), Indels (Inserciones/Deleciones), entre otros. En la actualidad, los grupos sanguíneos, al igual que la mayoría de marcadores identificados a través de técnicas tradicionales, están siendo analizados también mediante metodologías moleculares altamente refinadas.

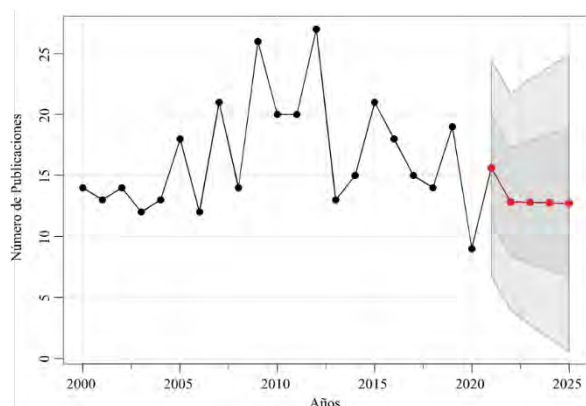


Figura 1: Variación cronológica (2000-2021) del número de publicaciones detectadas sobre el sistema sanguíneo eritrocitario Duffy. Se presenta una predicción de trabajos a ser publicados sobre este marcador genético hasta 2025 (perfil de la distribución en rojo junto a los valores de $\pm\sigma$ y $\pm 2\sigma$). “Duffy Blood Group” ha sido la palabra clave utilizada como referencia en PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) junto a otras con las que puede estar científicamente relacionadas: “Allelic Variants”, “SNP polymorphisms”, “Human Migration” and/or “Admixture”, “Adaptive Evolution” or “Positive Selection”.

El presente trabajo tiene como objetivo central desarrollar una actualizada revisión sobre el sistema Duffy, uno de los grupos sanguíneos que, desde su descubrimiento, ha suscitado un mayor interés por su proyección antropológica, genética, epidemiológica y biomédica. Este estudio presta atención a los importantes avances hechos sobre la arquitectura molecular del gen Duffy y las nuevas variantes alélicas detectadas. Asimismo, se analizan las interrelaciones entre el fenotipo Duffy “nulo” y la malaria “vivax”, un escenario principalmente confinado al África subsahariana. El análisis de las migraciones históricas y las subsiguientes mezclas poblacionales de diferentes composiciones genéticas, utilizando el Duffy como marcador antropogenético, representa también otro de los enfoques considerados aquí.

Las bases genético-moleculares del *locus FY* (*DARC/ACKR1*)

El sistema Duffy constituye el primer grupo sanguíneo cuyo *locus* fue asignado a un cromosoma autosómico del hombre. El *locus* Duffy (*FY*) está localizado en una región pericéntrica del cromosoma 1

(C-1) (1q22-23) (Donahue et al., 1968; Mathew et al., 1994; Tournamille, 2000; Bailly, Chiaroni y Roubinet, 2015) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>) y presenta sintenia con otros marcadores como el *RH* (*RHESUS*) (1p36.2-p34), *6-PGD* (6-Fosfo-Gluconato Deshidrogenasa) (1p.124), *PGMI* (Fosfo-Glucomutasa *locus* 1) (1p.079) y *PEPC* (Peptidasa C) (1q.030) (Figura 2), los cuales contienen también un apreciable polimorfismo alélico. El C-1 tiene una longitud global de 248.956.422 Mb (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/grc/human>). El gen *FY* se extiende por 1.5 kb de ADN genómico, está compuesto de dos exones (21 pb y 990 pb) y un intrón (480 pb) (Reid et al., 2012) y presenta dos transcritos alternativos o isoformas: la “*major*” (β) constituida por un polipéptido de 336 aminoácidos y la “*minor*” (α) de 338 aminoácidos. La isoforma “*major*” o glicoproteína principal, es justo la portadora de los antígenos Duffy (Chaudhuri et al., 1995). Esta proteína glicosilada de membrana es, además, un receptor específico para varias quimiocinas (polipéptidos), con un importante papel regulador en la respuesta inflamatoria. De ahí que, al gen *FY* se le reconozca también como el gen *DARC* (*Duffy Antigen Receptor of Chemokines*). En la actualidad, otra denominación científica válida del gen *FY* es *ACKR1* (*Atypical Chemokine Receptor 1, Duffy Blood Group*) (<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ACKR1>). Dependiendo de los Consorcios Internacionales y repositorios en webs oficiales que tratan sobre el genoma humano, al gen *ACKR1* se le asocia con diferentes códigos de identificación: HGNC: 4035; NCBI Entrez Gene: 2532; Ensembl: [ENSG00000213088](https://ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/Ensembl/ENSG00000213088); OMIM: 6133665; UniProtKB/Swiss-Prot: Q16570. Como los antígenos Duffy funcionan como receptores de diferentes clases de quimiocinas, esta condición puede ser indicadora del papel que paralelamente pueden desempeñar como antígenos menores de histocompatibilidad (Lerut et al., 2007). Tal escenario conlleva a reconocer la importancia de esos antígenos en los trasplantes de órganos.

Nomenclatura actualizada

En el 2021, la ISBT (*International Society of Blood Transfusion*, <https://www.isbtweb.org/>) señala



Figura 2: Arquitectura del cromosoma 1 del hombre. Se muestra la topología del locus Duffy (*FY*) y su sintenia con otros loci como el *RH*; *6PGD*, 6-fosfogluconato deshidrogenasa; *PGM1*, fosfo-gluconato mutasa locus 1 y *PEPC*, peptidasa C, los cuales también han sido utilizados comúnmente en los estudios de diversidad genética humana (Figura adaptada de Daniels, 1981).

que el número total de antígenos de grupos sanguíneos son 345, los cuales pertenecen a 43 sistemas de grupos sanguíneos eritrocitarios determinados por 48 genes. La Tabla 1 presenta una selección de grupos sanguíneos que han proporcionado una interesante y rentable información sobre la magnitud de la diversidad genética humana actual (más detalles en Chiaroni et al., 2005). De modo general, a cada antígeno perteneciente a un sistema de grupo sanguíneo se le identifica terminológicamente con seis dígitos. Los tres primeros representan al sistema y, los otros tres, a la especificidad concreta del antígeno. De acuerdo con la ISBT, el código 008 corresponde al sistema Duffy y los tres dígitos siguientes, por ejemplo, el 001 se refiere al antígeno Fy^a , uno los principales antígenos de este sistema eritrocitario (más detalles en la Tabla 2a). Los fenotipos se representan con el símbolo del sistema en minúscula seguido de dos puntos para continuar con la secuencia de antígenos que correspondan y separados

éstos por comas. Los antígenos que están ausentes o no son técnicamente detectados se muestran con un signo menos (-). Para el caso de los alelos (ver Tabla 2b), éstos se designan con el símbolo del locus en mayúscula y en cursiva, seguido de un asterisco como exponente (*) y el código del alelo al que se hace referencia, por ejemplo, *FY*01*. Esta terminología “numérica” se ve acompañada en paralelo por otra de carácter “alfabético” de tal manera que, uno puede referirse al alelo 1 del locus *FY* bien como o *FY*A* o *FY*01*. En ambos casos estaríamos refiriéndonos al antígeno Fy^a . Los fenotipos Duffy son esencialmente el resultado de combinaciones de sus tres principales alelos *FY*A (01)*, *FY*B (02)* y *FY*O* (hoy identificado como *FY*B^{ES}*) [**^{ES}erythrocyte silent*]. El locus Duffy trialélico, presenta unas relaciones claras de dominancia/recesividad. El *FY*A (FY*01)* y el *FY*B (FY*02)* comparten la condición de ser co-dominantes, mientras que el alelo *FY*O* es recesivo respecto a los

Tabla 1. Sistemas de grupos sanguíneos que han sido utilizados con regularidad en estudios de diversidad genética humana actual (<https://www.isbtweb.org/>).

| NOMBRE DEL SISTEMA | CÓDIGO EN ISBT* | SÍMBOLO EN ISBT | NOMBRE DEL GEN | NÚMERO DE ANTÍGENOS | LOCALIZACIÓN CROMOSÓMICA |
|--------------------|-----------------|-----------------|---------------------------|---------------------|--------------------------|
| ABO | 001 | ABO | <i>ABO</i> | 4 | 9q34.2 |
| MNS | 002 | MNS | <i>GYPA, GYPB, (GYPE)</i> | 50 | 4q31.21 |
| P1PK | 003 | P1PK | <i>A4GALT</i> | 3 | 22q13.2 |
| RH | 004 | RH | <i>RHD, RHCE</i> | 55 | 1p36.11 |
| Lutheran | 005 | LU | <i>BCAM</i> | 27 | 19q13.2 |
| Kell | 006 | KEL | <i>KEL</i> | 36 | 7q33 |
| Lewis | 007 | LE | <i>FUT3</i> | 6 | 19p13.3 |
| Duffy | 008 | FY | <i>ACKR1</i> | 5 | 1q21-q22 |
| Kidd | 009 | JK | <i>SLC14A1</i> | 3 | 18q11-q12 |
| Diego | 010 | DI | <i>SLC4A1</i> | 22 | 17q21.31 |
| Xg | 012 | XG | <i>XG, MIC2</i> | 2 | Xp22.32 |

*ISBT, International Society Blood Transfusion

Tabla 2 (a y b). a) antígenos Duffy y su nomenclatura actual, b) terminología numérica y alfabética de los principales alelos y variantes alélicas del locus Duffy.

| a) | | | CÓDIGO DE LOS ANTÍGENOS | | | | | |
|---------|--------|-----------|-------------------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|
| Sistema | Nombre | Gen | 001 | 002 | 003 | 004 | 005 | 006 |
| 008 | Duffy | <i>FY</i> | Fy ^a | Fy ^b | Fy ³ | Fy ^{4*} | Fy ⁵ | Fy ⁶ |

**antígeno no considerado desde 2010 (ISBT workshop).*

| b) | TERMINOLOGÍA NUMÉRICA | TERMINOLOGÍA ALFABÉTICA |
|----|-----------------------|--------------------------|
| | <i>FY*01</i> | <i>FY*A</i> |
| | <i>FY*02</i> | <i>FY*B</i> |
| | <i>FY*01N.01</i> | <i>FY*AE^S</i> |
| | <i>FY*02N.01</i> | <i>FY*BE^S</i> |
| | <i>FY*01W.01</i> | <i>FY*Aw ó débil</i> |
| | <i>FY*02W.01</i> | <i>FY*Bw ó débil</i> |

otros dos. Haciendo uso de los antisueros (o anticuerpos) antitéticos anti-Fy^a y anti-Fy^b, se pueden identificar en el laboratorio cuatro fenotipos Duffy: Fy(a+b-) o *FY* (1,-2); Fy(a+b+) o *FY* (1, 2); Fy(a-b+) o *FY* (-1, 2) y, Fy(a-b-) o *FY* (-1,-2). En consecuencia, los alelos *FY*A* y *FY*B* dan lugar a los tres primeros fenotipos. Los otros tres epítipos Duffy: Fy³, Fy⁵ y Fy⁶ (determinantes antigénicos) presentan una prevalencia muy variable entre las poblaciones humanas actuales y, comparativamente, no son tan representativos en términos de la genética de poblaciones.

Alelos y variantes alélicas Duffy

Los alelos *FY*A* (*FY*01*) y *FY*B* (*FY*02*)

El *FY*A* (*FY*01*) y el *FY*B* (*FY*02*) difieren entre sí en un solo polimorfismo nucleotídico (SNP,

rs12075) localizado en el exón 2 del gen *DARC/ACKR1* (ver Figura 3). Dicho SNP c.125 G>A estaría indicando que el *FY*A* tiene la base nucleotídica guanina (G) mientras que el *FY*B* tiene la adenina (A) (mutación no-sinónima). Esa transición o cambio de sentido de la mutación conduce a un codón GGT, el cual codifica el aminoácido glicina o glicocola (Gly) en el alelo *FY*A* mientras que el otro codón GAT, codifica el ácido aspártico (Asp) en la posición 42 del producto/transcrito mayor en el alelo *FY*B* (Gly 42 Asp) (Chaudhuri et al., 1995, Tournamille et al., 1995a). Esa sustitución tiene lugar en la región N-terminal extracelular de la glicoproteína Duffy (gp-Duffy), la cual es la responsable del polimorfismo antigénico Fy^a y Fy^b (Babinet y Tournamille, 2015; Höher, Fiegenbaum y Almeida, 2018). El antígeno Fy^b es considerado como el ancestral. Detalles acerca del

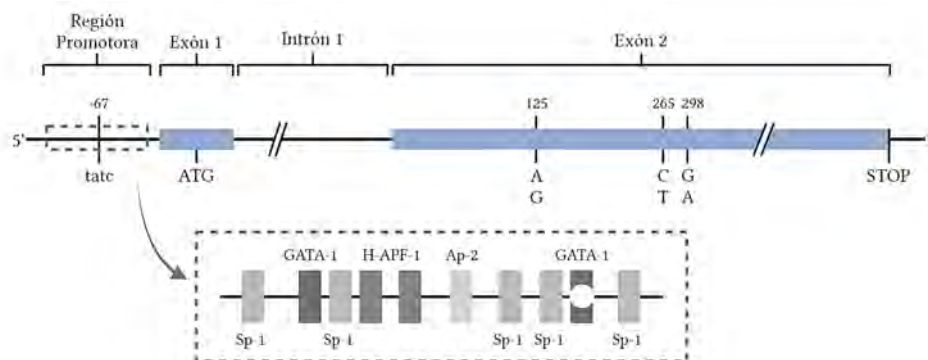


Figura 3: Una representación esquemática del gen *FY* (*DARC*) responsable de codificar la glicoproteína Duffy (gp-FY) y de su estructura molecular en humanos. En la figura se indican los sitios de unión de los factores de transcripción Sp-1, GATA-1, Ap-2 y H-APF-1. El ensamblaje (splicing) alternativo de un intrón de 479 pb genera dos ARNm específicos de la forma α "minor" y β "major". La mutación puntual -67 T>C, responsable de la carencia de expresión del antígeno Duffy en células eritroides, se produce en el factor de transcripción GATA-1 al alterar su actividad (círculo blanco). Figura modificada de Tournamille (2000); Oliveira et al. (2012) y Reid et al. (2012).

polimorfismo alélico del sistema Duffy se muestran en la Tabla 3.

*El FY*X (FY*B^{débil} o FY*02W.01)*

Constituye una variante alélica rara del alelo *FY*B* y es la responsable de la expresión débil, a veces muy débil, del propio antígeno de especificidad *Fy^b* (Chown et al., 1965). Las bases moleculares del alelo *FY*X (FY*B^{débil})* fueron descubiertas y descritas por Olsson et al. (1998) y Tournamille et al. (1998). La diferencia entre el *FY*B* y el *FY*B^{débil}* o *FY*02W.01* está en que el segundo contiene dos mutaciones: la C265T (rs34599082) (anteriormente C286T) y la G298A (rs13962) (anteriormente A319T) (ver Figura 3). Es importante notar que únicamente el SNP G298A se encontraría siempre asociado con el fenotipo *FY*B^{débil}*. Sin embargo, el SNP C265T es el responsable de provocar esa significativa disminución en los niveles del antígeno *Fy^b*. En este contexto, al alelo *FY*X* se le ha considerado como el único antígeno descrito para explicar la disminución del antígeno *Fy^b*. En la actualidad se ha detectado otra nueva variante alélica *FY*X*, la *FY*02W.02* que también conduce a una expresión antigénica reducida. Dicha variante ha sido encontrada en muestras de sangre de individuos brasileños con ascendencia europea y africana subsahariana (Castilho et al., 2004). La caracterización molecular de la variante *FY*02W.02* ha puesto en evidencia que contiene las mismas mutaciones que el

*FY*02W.01* (C265T y A298G) más un tercer SNP adicional (G145T) que da lugar a un cambio de la Alanina al aminoácido Serina en la posición 49 del primer segmento transmembrana del antígeno *Fy^b*.

*El FY*A^{débil} (FY*01W.02) y el FY*A^{nulo} (FY*A^{ES})*

La variante débil del alelo *FY*A* se descubre en 2015 y al igual que el *FY*B^{débil}*, provoca una reducción de la expresión del antígeno *Fy^a*. Los dos polimorfismos C265T y G298A están presentes en el nuevo alelo *FY*01W.02* que, en combinación, debilitan la expresión del antígeno *Fy^a* (López et al., 2015). La existencia de ésta y otras variantes alélicas Duffy “débiles” demuestra la importancia de llevar a cabo estudios moleculares que garanticen un genotipado correcto y fiable. Un error en la caracterización de los antígenos *Fy^a débil* y/o *Fy^b débil* puede dar lugar a problemas transfusionales. El alelo *FY*A^{nulo} (FY*A^{ES})* fue inicialmente identificado por Zimmerman et al. (1999) estudiando a los Papúes de Nueva Guinea. Entre la muestra de población nativa estudiada (n= 1062), en un número de 23 individuos homocigotos para el *FY*A*, los análisis por citometría de flujo arrojaron niveles más bajos de antígenos *Fy^a* (aproximadamente la mitad) en la superficie de sus glóbulos rojos.

Tabla 3. Polimorfismo alélico del gen *FY (DARC)* y sus diferentes fenotipos serológicos (Zimmerman et al., 2013).

| Alelo | Antígenos | Genotipos | FENOTIPOS | |
|--------------------------|--|--|---|---|
| | | | Serológico | Expresión |
| <i>FY*A (FY*01)</i> | <i>Fy^a</i> (FY1 ó 008 001) | <i>FY*A/FY*A</i> | <i>Fy (a+b-)</i> (FY: 1, -2) | •2x <i>Fy^a</i> , 0x <i>Fy^b</i> |
| <i>FY*B (FY*02)</i> | <i>Fy^b</i> (FY2 ó 008 002) | <i>FY*A/FY*A^{ES}</i> | | 1x <i>Fy^a</i> , 0x <i>Fy^b</i> |
| <i>FY*X (FY*02W.01)</i> | <i>Fy^b débil</i> | <i>FY*A/FY*B^{ES}</i> | | 1x <i>Fy^a</i> , 0x <i>Fy^b</i> |
| <i>FY*A^{ES}</i> | | <i>FY*B/FY*B</i> | <i>Fy (a-b+)</i> (FY: -1, 2) | 0x <i>Fy^a</i> , 2x <i>Fy^b</i> |
| <i>FY*B^{ES}</i> | | <i>FY*B/FY*A^{ES}</i> | | 0x <i>Fy^a</i> , 1.1x <i>Fy^b</i> |
| | | <i>FY*B/FY*B^{ES}</i> | | 0x <i>Fy^a</i> , 1x <i>Fy^b</i> |
| | | <i>FY*B/FY*X</i> | <i>Fy (a-b+) “débil”</i> | 0x <i>Fy^a</i> , 1x <i>Fy^b</i> |
| | | <i>FY*X/FY*X</i> | | 0x <i>Fy^a</i> , 0.2x <i>Fy^b</i> |
| | | <i>FY*X/FY*A^{ES}</i> | | 0x <i>Fy^a</i> , 0.1x <i>Fy^b</i> |
| | | <i>FY*X/FY*B^{ES}</i> | 0x <i>Fy^a</i> , 0.1x <i>Fy^b</i> | |
| | | <i>FY*A/FY*B</i> | <i>Fy (a+b+)</i> (FY: 1, 2) | 1x <i>Fy^a</i> , 1x <i>Fy^b</i> |
| | | <i>FY*A^{ES}/FY*A^{ES}</i> | <i>Fy (a-b-)</i> (FY: -1, -2) | 1x <i>Fy^a</i> , 0.1x <i>Fy^b</i> |
| | | <i>FY*A^{ES}/FY*B^{ES}</i> | | 0x <i>Fy^a</i> , 0x <i>Fy^b</i> |
| | | <i>FY*B^{ES}/FY*B^{ES}</i> | | 0x <i>Fy^a</i> , 0x <i>Fy^b</i> |

• En la columna de la derecha, los números asociados a los antígenos Duffy, indican la fuerza o intensidad (score) del antígeno correspondiente de especificidad Duffy. Por ejemplo, el número 2 significaría una alta expresión del antígeno; el 1, una expresión intermedia del antígeno indicaría una carencia de expresión antigénica para una especificidad dada.

El alelo *FY*B^{nu}* (*FY*B^{ES}* o *FY*O* o *FY*O2 N.O*).

El fenotipo Fy(a-b-) negativo, el cual no manifiesta expresividad antigénica Duffy, se detectó por vez primera en 1955 y, unas décadas más tarde, se descubrió que el alelo *FY*B* cuando presenta la mutación puntual c1.-67 T>C (rs2814778) (anteriormente descrita como c.-33 T>C) en la región no traducida 5' da lugar al alelo *FY*B^{nu}* (*FY*B^{ES}* o *FY*O*) (Tournamille et al., 1995b). Los resultados derivados del citado estudio permitieron dar una explicación genético-molecular del fenotipo serológico Duffy negativo. Los africanos subsaharianos, mayoritariamente homocigotos para el alelo silente *FY*O* (*FY*B^{ES}*), son identificados como Duffy negativos. El gen *FY*O* sí puede expresarse en tejidos no-eritroides. El alelo *FY*O* altera la actividad del promotor en los glóbulos rojos impidiendo únicamente la expresión antigénica en estas células. Esa alteración es debida a una interrupción en el sitio de unión para el factor de transcripción eritroide h-GATA-1 (ver Figura 4). En individuos con fenotipo Fy(a-b-), la gp-Duffy puede actuar como un depurador del exceso de quimiocinas y, también explicar algunas correlaciones observadas de naturaleza patológica tales como: *i*). Una mayor susceptibilidad al shock séptico, *ii*). Una mayor

frecuencia de lesiones post-infarto de miocardio, *iii*) Un mayor número de rechazos de trasplante renal, y, *iv*). Una mayor incidencia de cáncer de próstata con una mayor mortalidad ligada a esta patología. También puede cumplir un papel esencial en la migración de leucocitos (Iwamoto et al., 1996).

Las técnicas serológicas vs. moleculares en la caracterización de alelos y variantes alélicas del gen Duffy

Hasta la década de 1990, las técnicas serológicas fueron prácticamente las únicas utilizadas para la tipificación o fenotipado de los grupos sanguíneos. Sin embargo, a medida que el análisis y conocimiento de la estructura del ADN a lo largo de la década de 1980 empezó a incrementarse, las técnicas serológicas han ido situándose lentamente en un segundo plano, a pesar de reconocer su progresivo refinamiento tanto en su sensibilidad como en su acelerada automatización. En la actualidad, las técnicas moleculares aplicadas al análisis de los grupos sanguíneos se están utilizando paralelamente a las serológicas (Antígeno-Anticuerpo) sobre todo, cuando los resultados no son suficientemente concluyentes. En esta línea, los estudios poblacionales basados en el análisis molecular de los grupos sanguíneos están mostrando una

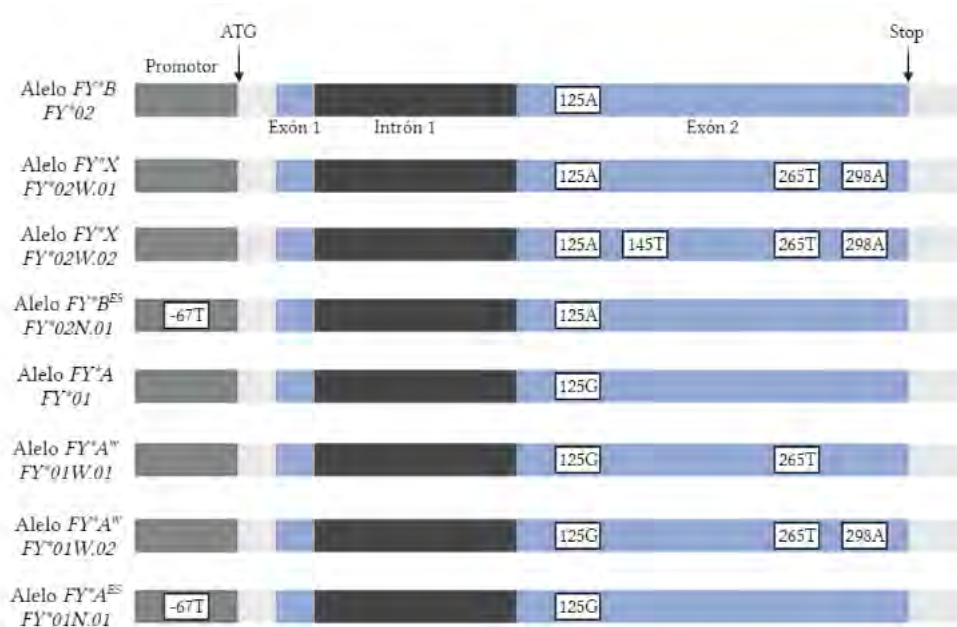


Figura 4: Bases moleculares del locus Duffy mostrando los SNPs que caracterizan a los diferentes alelos y variantes alélicas Duffy. Figura modificada de Bailly et al., (2015).

tendencia positiva y más visible, aunque todavía son más bien escasos (ver Storry, Jöud y Olsson, 2019; Fürst et al., 2020). Las técnicas serológicas se fundamentan en la reacción visible de aglutinación o no, de los glóbulos rojos *in vitro*. Dicha reacción se produce, simplemente, por la interacción entre un antígeno presente sobre la superficie de los eritrocitos y un anticuerpo de su propia especificidad, cuyo acoplamiento permite detectar la presencia de ese determinante antigénico en la sangre.

Cuando se quiere conocer o determinar el grupo sanguíneo de un individuo se utiliza, según los casos, bien sangre total o sangre diluida 3-5% en solución salina fisiológica (0.9% NaCl). A los glóbulos rojos objeto de análisis se les enfrenta a unos anticuerpos específicos para la caracterización de un antígeno determinado. Este procedimiento puede ser directo o indirecto. El primer escenario, hace referencia a aquellos antígenos de grupos sanguíneos inmunológicamente fuertes “*major blood groups*”, por ejemplo, el *ABO* y el *RH*. El segundo, cubre aquellos grupos sanguíneos cuyos antígenos son, en general, de bajo poder inmunógeno “*minor blood groups*”). Los antígenos Duffy forman parte de esta segunda categoría. Sin embargo, éstos pueden dar lugar, a veces, a situaciones inmunológicamente fuertes, de ahí que los propios anticuerpos Duffy (Anti-Fy^a) puedan verse implicados en trastornos inmunohemolíticos, como consecuencia de transfusiones de sangre no-compatibles entre donante y receptor, y ser responsables también de la enfermedad hemolítica del feto o del recién nacido. Cuando estamos frente a

grupos sanguíneos cuyos antígenos son inmunológicamente débiles, los eritrocitos pueden requerir de una fase técnica intermedia para la detección de los mismos. En esa fase, encontramos la prueba de la antiglobulina humana, la cual tiene como principal objetivo detectar la presencia de anticuerpos del tipo IgG o el complemento 3 (C3), unidos esos a antígenos específicos localizados sobre la membrana de los glóbulos rojos. En definitiva, el papel de la antiglobulina humana sería establecer de puente entre esos glóbulos rojos previamente “sensibilizados” o acoplados con su anticuerpo específico, provocando una aglutinación macroscópicamente visible. Los dos sitios Fab (*antigen-binding fragment*) del anticuerpo reactivo se unen a la región Fc (*fragment crystallizable*) del anticuerpo que recubre los glóbulos rojos del individuo al que se realiza la prueba.

La Figura 5 presenta de manera gráfica y sencilla los fundamentos de la técnica de la antiglobulina humana. Dicho procedimiento fue introducido por vez primera en la medicina clínica por R. Coombs (1945). Un año más tarde, el mismo autor publicó el uso de la prueba directa de la antiglobulina como método para demostrar la sensibilización “*in vivo*” de los glóbulos rojos, en la enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido. En la literatura científica, la prueba de la antiglobulina es conocida corrientemente como prueba de Coombs (*Coombs test*) y continúa siendo uno de los tests más utilizados a nivel hospitalario.

La técnica HRM (*High-Resolution Melting*) representa un innovador y sencillo modelo de

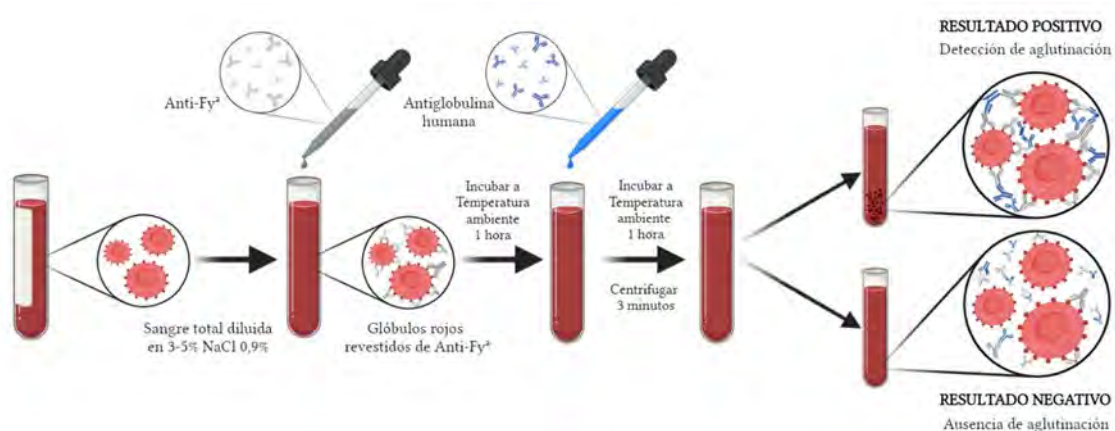


Figura 5: Una visión global de los fundamentos de la “prueba indirecta de la antiglobulina humana” para la detección de antígenos de grupos sanguíneos inmunológicamente débiles.

genotipado-cuando se compara al desarrollado en la detección de los polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLPs) y a la PCR multiplex (Wittwer et al., 2003). En consecuencia, es una alternativa a la técnica serológica. Dicha técnica post-PCR detecta y categoriza mutaciones y polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), así como nuevas variantes en un fragmento dado dentro de un gen, sin necesidad de secuenciar los nucleótidos (Lukasik et al., 2015). En otras palabras, los análisis HRM, a través de señales de fluorescencia, generan una curva de fusión característica para cada variante que hace distinguible cada SNP. En esta última década, el genotipado del sistema Duffy por HRM, está conduciendo a una sostenida pero todavía lenta cadencia de publicaciones, cuyo objetivo es dilucidar las bases moleculares de los distintos fenotipos Duffy a nivel poblacional o utilizando árboles familiares concretos. En este contexto, sería importante recordar que el polimorfismo de este marcador eritrocitario se encuentra en el nucleótido 125 del exón 2 (125 G>A) del gen *FY*, diferenciándose el antígeno Fy^a del antígeno Fy^b. De igual forma, también identifica la mutación en el promotor (nucleótido 67) que impide la expresión del antígeno Duffy en los glóbulos rojos. Más información sobre las fundamentos y aplicación de la técnica HRM en los tres fenotipos Duffy positivos: Fy(a+b+), Fy(a-b+), Fy(a+b-) y en el Duffy negativo: Fy(a-b-) se puede encontrar en Tanaka et al. (2011) y Lukasik et al. (2015), entre otros.

El sistema Duffy: un ejemplo de relación entre salud pública y genética de poblaciones

El impacto de la selección natural canalizada por patógenos es probablemente mucho más alto para aquellos agentes infecciosos que han estado conviviendo con los humanos durante largos períodos de tiempo o generaciones. A esos factores, además, se les consideran las causas de algunas enfermedades infecciosas que son paradigmáticas en el hombre, entre las cuales se encuentra la malaria (Domínguez-Andrés y Netea, 2019). La malaria representa una de las presiones selectivas más intensas en el genoma humano y, en consecuencia, ha modulado la diversidad genética en la población humana. Esta observación es especialmente relevante en el genoma de poblaciones

del continente africano, sobre todo, en muchas comunidades dispersas por el África subsahariana (Liu et al., 2013; McManus et al., 2017; Schlebusch y Jakobsson, 2018; Kano et al., 2018; Kariuki y Williams, 2020).

La malaria representa un serio problema sanitario en muchas regiones y poblaciones mundiales (Hedrick, 2005; Omenn, 2010; Bauduer, 2013). En 2019, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó ~229 millones de casos, con una mortalidad asociada de medio millón de personas en ese año. Un alto porcentaje del total de esas muertes por malaria (67%) se referían a la población infantil. La especie humana es huésped de, al menos, cuatro especies del parásito *Plasmodium sp.*, causante de la malaria: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*. Las dos primeras especies son las más prevalentes entre los humanos y las responsables, además, de esa alta mortalidad. El parásito es transmitido a través de la picadura de un vector, la hembra del mosquito *Anopheles*. J.B.S. Haldane (1892-1964) fue el primero en sugerir la relación entre la talasemia -una hemoglobinopatía de carácter polimórfico- y la resistencia a la malaria. Los datos disponibles en la bibliografía sobre los patrones espaciales de variación geográfica de la malaria y las tasas de mortalidad asociada, han permitido explicar las altas frecuencias de variantes alélicas clásicas en varios genes como el *FY (DARC)*, el de la α -globina (*HBA*) y el de la β -globina (*HBB*) y, el de la Glucosa-6 Fosfato Deshidrogenasa (*G-6PD*). Otras variantes genéticas adicionales (ver Tabla 4) han mostrado igualmente señales de selección positiva reciente en poblaciones africanas, asentadas en áreas geográficas de la vertiente más occidental del continente con una alta incidencia de malaria. Todo ello ha conducido a interesantes adaptaciones locales en contra de esa enfermedad infecciosa (Kariuki y Williams, 2020).

Al menos 80 millones de personas en el mundo sufren malaria “*vivax*”, siendo la especie de *Plasmodium* más común y la más ampliamente diseminada fuera del África subsahariana. Un ejemplo de este escenario lo encontramos en Asia y América Latina, donde el *P. vivax* es la principal causa de la malaria humana (Guerra et al., 2010; King et al., 2011; Liu et al., 2014). Las relaciones empíricamente contrastadas entre la malaria “*vivax*” y los antígenos

Duffy han sido calificadas como una de las interacciones más sorprendentes entre una enfermedad infecciosa y un rasgo genético (Bauduer, 2013; Zimmerman et al., 2013). En este línea, polimorfismos de un único nucleótido (SNPs) dentro de la región genómica HLA y presentes dentro de los *loci* HLA-Clase II (*-DRB1** y *-DQB1**), han sido relacionados también por su capacidad protectora contra el *P. vivax*, en ciertas áreas de África donde la enfermedad es endémica (Domínguez-Andrés y Netea, 2019). Recordemos que el gen *FY* (*DARC*) codifica un receptor transmembrana (antígeno Duffy) en eritrocitos, el cual es usado fácilmente por el *P. vivax* para infectar o invadir los glóbulos rojos. Por el contrario, la especie "*falciparum*" recurre a múltiples y diferentes receptores para lograr el acceso a la célula. Un esquema gráfico y explicativo del ciclo biológico seguido por el parásito *Plasmodium* una vez que el mosquito *Anopheles* efectúa la picadura en el huésped, puede encontrarse en Kariuki y Williams (2020).

De acuerdo con los escenarios observados de adaptaciones locales (mayor *fitness* -viabilidad y/o capacidad reproductiva) de poblaciones humanas viviendo bajo condiciones ambientales de malaria endémica, cabría preguntarse: ¿Qué papel ha representado en el pasado y, representa en la actualidad

la malaria como fuerza selectiva positiva, en aquellos individuos Duffy negativos? La respuesta sería que aquellas personas con ese rasgo genético responderían con una protección firme ante el parásito. En el estudio de Howes et al. (2011) "*The global distribution of the Duffy blood group*" los autores observaron que en algunas comunidades asentadas en la vertiente más occidental del África subsahariana, especialmente, desde Gambia a Nigeria y, a lo largo del África central, el alelo *FY*O* registra frecuencias particularmente elevadas e incluso, alcanza valores próximos a su fijación (~100%). Desde tiempos antiguos, el *P. vivax* ha sido endémico en la mayor parte del África central. En el momento actual, sin embargo, dicho parásito está ausente o al menos su presencia es bastante rara, debido a esa muy alta representatividad del *FY*O*, como ha sido ya enfatizado. Tal observación epidemiológica se ha considerado clave para entender la relación entre antígenos Duffy y malaria, como un ejemplo de co-evolución parásito-hospedador. No obstante, la evolución de las asociaciones antígenos Duffy-malaria, así como la naturaleza de esa adaptación, es hoy todavía motivo de debate. Concretamente, el hecho de que el alelo *FY*O* continúe estando tan significativamente representado en algunas poblaciones africanas contemporáneas podría explicarse por: *i*). un

Tabla 4. Algunos marcadores genéticos considerados de acción protectora frente a la malaria (Kariuki & Williams, 2020).

| GEN | PROTEÍNA CODIFICADA | VARIANTE |
|-----------------------------------|---|--|
| <i>HBB</i> | β -globina | Portadores heterocigotos de hemoglobina falciforme (Hb AS) |
| <i>HBB</i> | β -globina | β -talasemia heterocigótica (ausencia o reducción de β -globina) |
| <i>HBA</i> | α -globina | α -talasemia (deleción o inactividad de uno o más de los 4 genes normales de α -globina) |
| <i>G6PD</i> | Glucosa-6-Fosfato Deshidrogenasa (<i>G6PD</i>) | Heterocigotos femeninos para la deficiencia de G6PD (<i>G6PDd</i>) |
| <i>CR1</i> | Receptor del complemento tipo 1 | Polimorfismo de Swain-Langley 2 (<i>Sl2</i>) |
| <i>FY</i> | Antígeno Duffy Receptor de Quimiocinas (<i>DARC</i>) | Alelo <i>FY*ES</i> |
| <i>ABO</i> | Enzima Glicosiltransferasa | Deleción de un nucleótido ABO (rs8176719)—Grupo sanguíneo O |
| <i>ATP2B4</i> | Transportador de calcio PMCA4 | SNPs <i>ATP2B4</i> (rs4951074 y rs1541255) |
| <i>GYP</i> | Glicoforinas | Genes híbridos duplicados <i>GYPB-A</i> que codifican el grupo sanguíneo Dantu |
| <i>IL23R</i> , <i>IL12-RB2</i> | Interleucina 23 e interleucina 12 receptora del complemento | Grupos SNPs <i>IL23R-IL12RB2</i> |

comportamiento más agresivo del *P. vivax* en el pasado, *ii*). un efecto de protección cruzada contra el *P. falciparum* y, *iii*). una presumible ventaja selectiva frente a un agente aún no identificado.

Curiosamente, la condición de homocigosis o heterocigosis para el alelo *FY*O* (*FY*B^{ES}*) no parece presentar ningún tipo de coste biológico para aquellas personas que presenten esa condición. En otras palabras, la eficacia biológica de los genotipos *FY*O/FY*O* no parece verse afectada viviendo bajo condiciones ambientales de malaria (Hedrick, 2011). Si ese escenario existiera, podría esperarse una disminución en las frecuencias del *FY*O* paralelamente a la reducción de la presencia del *P. vivax* (el agente selectivo) en África. El alelo *FY*A^{ES}* tampoco permite la expresividad del antígeno Duffy, por lo que de una manera similar al *FY*B^{ES}* (*FY*O*), estaría presumiblemente confiriendo resistencia a la infección por el *P. vivax*. No obstante, el efecto protector del *FY*A^{ES}* no es tan determinante frente a la malaria “*vivax*” (Schlebusch y Jakobsson, 2018). El patrón de distribución espacial del alelo *FY*A^{ES}* parece limitarse al Pacífico Sur (Papúa Nueva Guinea y áreas circundantes), donde también el parásito es endémico y, en consecuencia, podría haberse dado el mismo proceso selectivo dentro de la población nativa. Estas interesantes observaciones parecen poner en evidencia, no solo la significativa dependencia que tiene el parásito respecto al grupo sanguíneo Duffy sino también, que la frecuencia y estructura molecular del fenotipo Duffy negativo es claramente dependiente de la constitución genética de la población.

Asimismo, una resistencia completa de los fenotipos Duffy negativos ante la infección por malaria ha sido y, continúa siendo motivo de controversia (Brown et al., 2021). En esta dirección, Ménard et al. (2010) confirmaron casos entre la población nativa de Madagascar (población malgache) la cual, siendo identificada como mayoritariamente Fy(a-b-), era susceptible, curiosamente, a la infección por el *P. vivax*. Los resultados de ese estudio sugirieron que ciertas cepas del parásito habrían podido evolucionar buscando otros mecanismos –independientes a la presencia del antígeno Duffy– para infectar a los glóbulos rojos. En estos casos, aparentemente no esperados, los efectos de la malaria son menos severos que los encontrados en individuos Duffy positivos.

Escenarios comparables han sido encontrados en otras regiones africanas tanto del este (Kenia) como del oeste (Angola y Guinea Ecuatorial) donde sus poblaciones locales son mayoritariamente Duffy negativas (Ryan et al., 2006). Estas observaciones estarían sugiriendo que el parásito podría no ser absolutamente dependiente del receptor antigénico eritrocitario Duffy, como ha sido tradicionalmente asumido (Culleton y Ferreira, 2012). En estos últimos años se han desarrollado estudios GWAs (*Genome Wide Associations studies*) cuyo principal objetivo ha sido obtener conocimientos más prospectivos sobre otros marcadores que pudieran expresar resistencia a la malaria. Para ello, se han analizado poblaciones humanas asentadas en territorios endémicos para esa enfermedad infecciosa. Con el uso de esas nuevas tecnologías altamente resolutivas, y, utilizando paneles de SNPs de diferentes densidades, se han obtenido interesantes resultados entre los que se encuentran: *i*). La confirmación de las asociaciones más conocidas entre los genes clásicos *FY*, *HBB* y *G6PD* y la malaria y, *ii*). La identificación de nuevas variantes, como las relacionadas con la proteína de membrana polimórfica *ATP2B4*, el grupo sanguíneo Dantu y, otras relacionadas con la respuesta inmune (Kariuki y Williams, 2020).

El sistema Duffy en primates no-humanos y su relación con la malaria

Los conocimientos existentes hoy sobre la presencia de grupos sanguíneos en primates, su caracterización serológica y sus bases moleculares son abundantes. Esa información acumulada ha permitido establecer comparaciones detalladas con sus homólogos en los humanos para entender, no solo aspectos evolutivos subyacentes a esos polimorfismos genéticos, sino también la relación entre algunos antígenos de grupos sanguíneos como receptores de patógenos. Un ejemplo de ello lo representa el sistema Duffy. Glicoproteínas Duffy homólogas están presentes en primates no-humanos, con una homología en la secuencia de aminoácidos del 99% entre el chimpancé (*g. Pan*) y el hombre y, alrededor del 93-94% entre el hombre y el mono ardilla (*g. Saimirii*), el mono aullador (*g. Aotus*) y el mono rhesus (*Macaca mulatta*) (Chaudhury et al., 1995; Daniels, 2002). En

este contexto, Stong y Stone (1980) investigando la presencia de los antígenos polimórficos Fy^a y Fy^b en una muestra de macacos ($n=40$) observaron que todos los primates simios cercopitécidos analizados, presentaban el fenotipo serológico $Fy(a-b+)$. Además, ese antígeno Fy^b se inactivaba por la quimi tripsina y no por la tripsina, lo que hizo pensar que era homólogo al correspondiente en humanos. Esos datos y resultados y otros posteriores han venido confirmando que algunos primates no-humanos simios tienen genes Duffy codificando Asp 42, el cual está identificado con el antígeno Fy^b , lo que permitiría deducir que el $FY*B$ es el alelo ancestral.

Hoy se sabe que los antígenos Duffy no sólo actúan como receptores del *P. vivax*, sino que también manifiestan en humanos una apreciable susceptibilidad a la infección por el *P. knowlesi*, un parásito de primates no-humanos simios con una larga historia de investigación asociada a la malaria. El *P. knowlesi* está ampliamente distribuido por el sureste de Asia y es endémico en humanos. Algunas especies de primates cercopitécidos, pertenecientes al género *Macacca* y que habitan dentro de esa región geográfica, son infectados de manera natural por dicho parásito. En este sentido, algunos estudios han puesto de manifiesto que, sobre todo, el *M. fascicularis* y *M. mulatta* y, muy probablemente, el *M. nemestrina* y el *M. nigra*, son huéspedes naturales del *P. knowlesi* (Oliveira et al., 2012, Butcher y Mitchell, 2018). Curiosamente, estas especies pueden controlar la infección por dicho parásito y son capaces, además, de transformar ese episodio hacia un status de infección crónica. En otras palabras, el parásito llega a ser comensal. Otras especies hermanas de macacos de India y China y, por tanto, fuera del marco geográfico del *P. knowlesi* (sureste asiático), muestran una alta sensibilidad a la infección por el parásito, pero, a diferencia de los casos anteriores, carecen de control sobre las agudas infecciones que pueden derivarse, conduciéndoles, finalmente, a una muerte rápida. Las bases moleculares para explicar las tan apreciables diferencias observadas en el grado de susceptibilidad al *P. knowlesi* en diferentes especies de macacos son desconocidas (Butcher, Mitchell y Cohen, 2010). El que los glóbulos rojos Duffy negativos en humanos sean resistentes a ser infectados por el *P. vivax* y *P. knowlesi* no solo validaría el hecho de que la ausencia de antígenos

Duffy representa un ejemplo de selección natural (positiva), especialmente en áreas donde el *P. vivax* está ampliamente extendido, sino, también, que la invasión del parásito requiere la presencia de al menos un antígeno de especificidad Duffy (Barbosa de Carvalho y Barbosa de Carvahlo, 2011).

Dada la distribución geográfica actual del *P. vivax*, como factor causal de primer orden de la malaria humana y la alta presencia de la mutación $FY*O$ en el genoma de muchas de las poblaciones subsaharianas y de otras del Africa occidental, se ha suscitado el debate sobre el origen del *P. vivax*, es decir, si ese acontecimiento tuvo lugar en Asia o en África. Con estos objetivos Liu et al. (2014) analizaron secuencias de ADN mitocondrial (ADNmt) de *P. vivax* en más de 5000 muestras fecales procedentes de diferentes especies y subespecies de chimpancés (g. *Pan*) y gorilas (g. *Gorilla*) salvajes de zonas selváticas del África central. Curiosamente, los resultados evidenciaron que estos grandes monos africanos son infectados por parásitos estrechamente relacionados al *P. vivax* humano. Otro resultado surgido del citado estudio fue que esos primates antropomorfos africanos carecen de lo que se conoce como “especificidad de huésped”, lo que significa que son mucho más diversos para albergar parásitos de malaria de varias especies que en el caso del ser humano. Finalmente, los resultados moleculares sugieren que la historia evolutiva del *P. vivax* parece estar en África y no en Asia. Si esto es así, el *P. vivax* habría sido seleccionado muy probablemente para la mutación Duffy-negativa ($FY*O$) en el continente africano. Aceptando este nuevo escenario, un stock de *P. vivax* ancestral pudo haber infectado a humanos, gorilas y chimpancés en África hasta que la mutación Duffy-negativa, empezó a expandirse (~38.000 años BP, Hamblin y Di Rienzo, 2000). Tal proceso pudo tener como consecuencia asociada la eliminación del *P. vivax* en muchas de las comunidades asentadas en ese cinturón geográfico africano. Si estas interpretaciones son plausibles, todos los *P. vivax* existentes hoy se habrían derivado de un antecesor único que salió fuera de África. Una interesante cuestión que necesita ser todavía respondida estaría centrada en las señales actuales y perceptibles del *P. vivax* en África y si los primates no-humanos en el continente habrían actuado como reservorios Duffy positivos de *P. vivax*, en aquellas áreas geográficas

donde la población humana es prácticamente no-susceptible o resistente a la malaria “vivax”, dada la altísima frecuencia del alelo *FY* “nulo” (Culleton y Ferreira, 2012).

La geografía genética de los alelos *FY* en las poblaciones humanas actuales

El polimorfismo del *locus* Duffy exhibe uno de los patrones de diferenciación geográfica más extremos en el genoma humano (Howes et al., 2011). Muestras poblacionales analizadas de diferentes continentes han permitido observar que el *FY*A* y el *FY*B* son comunes en Europa y Asia. El *FY*B*, en particular y, en menor medida el *FY*A*, están presentes en los europeos [fenotipos Fy(a+b+): 44%; Fy(a-b+): 28%] así como en los norteafricanos. Por el contrario, el *FY*A* registra niveles especialmente altos entre las poblaciones asiáticas más orientales [fenotipo (a+b-): 61%] (ver Mazières y Chiaroni, 2015; McManus et al., 2017) y, además, parece estar avanzando hacia la fijación en comunidades nativas de Asia y América, donde la malaria endémica alcanza altos niveles de expresión (King et al., 2011). En algunos linajes africanos subsaharianos, el alelo *FY*O* ha logrado alcanzar como destino final su fijación (100%). Dentro de África, algunas excepciones puntuales las encontramos en los San-Khomani (Khoisanidos) asentados en las regiones meridionales del continente, donde los tres alelos Duffy principales aparecen representados, siendo la frecuencia del *FY*O* alrededor del 22% (Zimmerman et al., 2013). La mutación *FY*O* está asimismo muy representada (>80%) a lo largo de toda la Isla de Madagascar (Hodgson et al., 2014), en la Península de Arabia (>50%) y, en determinados grupos afroamericanos (65-70%) (Höher, Fiegenbaum y Almeida, 2018), especialmente, en aquellos asentados en la costa este atlántica y en la región del Caribe. En India, las frecuencias presentan una amplitud de variación entre el 5-20% y, en el sudeste asiático ~11%. En el resto de poblaciones humanas, la presencia del *FY*O* es prácticamente inexistente. Varios tipos de mapas que representan las distribuciones de frecuencias de los alelos Duffy en África, Europa, Asia y América pueden encontrarse en Howes et al. (2011), King et al. (2011), Zimmerman et al. (2013) y McManus et al. (2017).

Los pocos casos registrados del fenotipo serológico Duffy negativo Fy(a-b-) entre las poblaciones europeas y asiáticas parecen estar causados por mutaciones en la región codificante de los alelos *FY*A* y *FY*B*. Dichas mutaciones, cuando se presentan en estado de homocigosis, impiden la expresión antigénica Duffy en cualquier célula del cuerpo y, por tanto, estaríamos ante los verdaderos fenotipos Duffy “nulos”. Mallinson et al. (1995) encontraron un caso especialmente raro de Fy(a-b-) en un individuo de origen europeo, el cual presentaba una delección de 14 pb (pares de bases) en la secuencia codificante conduciendo a un residuo truncado de 118 aminoácidos. El sujeto, estaba aparentemente sano, a pesar de la falta de gp-FY en todo su organismo (Iwamoto et al., 1996). Los particulares patrones de variación geográfica mostrados por el *FY*O* entre continentes está claramente contrastada por el alto valor registrado de diferenciación genética interpoblacional ($F_{ST}= 0.78$), el más alto observado para cualquier alelo en el humanos (Cavalli-Sforza, Menozzi y Piazza, 1994). Dicho resultado nos estaría indicando claras y fuertes evidencias de la acción de la selección natural sobre ese *locus* (Hamblin y Di Rienzo, 2000).

El alelo *FY*X* (*FY*B^{débil}*) parece detectarse sobre todo en Caucasoides y, además, en bajas frecuencias (2-3%) (Olsson et al., 1998; Narboux et al., 2013). Dicha proporción es comparativamente más alta a la registrada en otros grandes grupos continentales. Sin embargo, algunos estudios sobre variación genética humana han sugerido que la presencia e incidencia del alelo *FY*X* ha podido ser subestimada en las muestras poblacionales analizadas (Murphy et al., 1997). La razón podría estar en que un número más bien alto de personas caracterizadas o identificadas como Fy(a+b-) podrían expresar reacciones suficientemente débiles no perceptibles del antígeno Fy^b (*FY*B^{débil}*). Para poder visualizar con fiabilidad esa débil manifestación del antígeno, se deberían utilizar técnicas que sean lo suficientemente sensibles. El fenotipado erróneo en donantes de sangre sobre la presencia o prevalencia del antígeno Fy^b débil, puede conllevar implicaciones serias en procesos de transfusión sanguínea. Hasta el momento, son todavía muy escasos los resultados procedentes de estudios poblacionales cuyo objetivo central haya sido dirigido al estudio molecular del gen

FY basado en sus SNPs [G125A, G298A, -67 T>C (T-33C) y, C265T].

Migraciones, mezclas poblacionales y ancestrías

El uso de marcadores genéticos altamente discriminantes en poblaciones africanas subsaharianas y europeas, como son los grupos sanguíneos Duffy (alelo *FY*O*), Rhesus (haplotipo *cDe o R^o*) y algunos alotipos de las inmunoglobulinas IgG (p.e. *GM*1, 17, 5*) por citar algunos ejemplos, han sido tradicionalmente utilizados para: *i*). Evidenciar trazas o huellas de migraciones en el pasado, *ii*). Detectar escenarios de flujo génico o mezclas poblacionales y *iii*). Valorar el grado o magnitud de esas mezclas. La cantidad de flujo génico ha sido estimada en un número de poblaciones humanas con ancestrías de sus generaciones parentales en otros territorios y poblaciones, caracterizadas éstas por tener particulares reglas socio-culturales y composiciones genéticas y, por tanto, con previsible y significativos valores de distancias genéticas (Kundu y Ghosh, 2015). Los primeros estudios sobre los efectos genéticos de las mezclas entre poblaciones genéticamente muy divergentes fueron desarrollados en la población afroamericana de Norte América. Los afroamericanos son el resultado biológico de cruzamientos consecutivos entre americanos de origen europeo con poblaciones africanas de origen subsahariano. Desde finales del siglo XVII hasta los comienzos del siglo XVIII (1700-1808) una apreciable cantidad de población esclava africana (principalmente del África occidental y centro-oeste) fue conducida a los Estados Unidos de América, así como al noroeste del Brasil. Esos movimientos de población dieron lugar con el tiempo a un lento pero recurrente flujo génico con la población de origen europeo asentada allí. En consecuencia, es más que predecible que el impacto genético y acumulativo de esas mezclas biológicas durante decenas de generaciones haya sido relevante. Los resultados de esos estudios han concluido, mayoritariamente, que el impacto de genes “europeos” dentro del genoma de la población afroamericana, aunque variable, ha sido más que apreciable debido a la asimetría en la manifestación de esa mezcla (Hedrick, 2005; Templeton, 2019).

Los primeros intentos para estimar los grados de mezclas poblacionales fueron hechos mediante el uso de marcadores de grupos sanguíneos (Adams y Ward, 1973). En el estudio de Parra et al. (1998) “*Estimating African American admixture proportions by use of population-specific alleles*”, se detectaron 10 alelos que presentaban notables diferencias en sus frecuencias entre europeos y africanos. Algunos de los más discriminantes fueron el *FY*O* o *FY*NULO*, *OCA2*1*, *RBE2300*1* y *GC-1F*, lo que permitió estimar, con un cierto grado de fiabilidad, el grado de mezcla o el valor de “M”. El significado subyacente de “M” es que iguala a la probabilidad de que un gen elegido al azar en cualquier subpoblación proceda de un individuo migrante. Los valores de “M” entre el conjunto de las seis muestras afroamericanas analizadas fue variable, desde M=0.225 (Nueva Orleans) a M=0.068 (Jamaica). La interpretación de estos resultados sería sencilla. Por ejemplo, en el caso de la población afroamericana de Nueva Orleans, ésta habría sido afectada por un flujo génico ~22% de origen europeo y el resto (78%) sería de origen africano. Por otro lado, la introducción de la malaria en la isla de Madagascar, así como la susceptibilidad genética de su población nativa a esa enfermedad infecciosa, ha permitido visualizar el impacto de las mezclas sobre la evolución de la enfermedad, bajo las particulares condiciones ambientales que definen ese ecosistema africano (Hodgson et al., 2014). La población malgache tiene su ancestría genómica predominante en el África subsahariana más oriental, por lo que sería de esperar que una gran parte de su población haya sido caracterizada con el fenotipo serológico Duffy-negativo. En tal caso, la población nativa sería ventajosa frente a la malaria “*vivax*”. Sin embargo, una combinación de factores ha venido adquiriendo un nivel de complejidad cada vez mayor, unido, además, a los acontecimientos que han marcado la historia evolutiva humana reciente de ese territorio insular. Durante los últimos 2000 años, la Isla de Madagascar ha sido un polo gravitacional de migraciones provenientes del este de Asia. Esas mezclas con poblaciones de origen Austronesio habrían conducido a la introgresión del grupo sanguíneo Duffy-positivo en el genoma de la población nativa (receptora). De ahí que una susceptibilidad a la infección por el *P. vivax* se habría transmitido a la población mezclada. Sin

embargo, los efectos de ese flujo génico se enfrentaron al hecho de que la malaria “*vivax*”, endémica en Madagascar, estaba ya presente en ese territorio y, por tanto, sensiblemente expuesta a la presencia de eritrocitos Duffy-negativos (Ménard et al., 2010). En consecuencia, en los individuos malgaches caracterizados como Duffy positivos ha sido observada la malaria “*vivax*” clínica a pesar de que ellos sean portadores del alelo *FY*O*, de efecto protector contra la enfermedad.

Recientemente, Hamid et al. (2021), utilizando nuevos métodos basados en ancestrías, han evaluado los efectos del intercambio genético, expresados éstos a través de una adaptación rápida a la malaria en la población humana de Cabo Verde, cuya mezcla pudo haberse iniciado ~500 años (~20 generaciones). El estudio demuestra que esa mezcla biológica ha facilitado una adaptación y que ésta comienza a ser detectada con señales claras en el genoma ~10 generaciones. El coeficiente de selección estimado para el alelo *FY*O*, con una resistencia adaptativa asociada a la infección por *P. vivax*, fue de $s = 0.02$. Dicho valor ha sido calificado como uno de los más altos para un *locus* genético en cualquier población humana. Mezclas de alelos *FY*A* y *FY*B* están ocurriendo en muchas y diversas poblaciones, como consecuencia de migraciones europeas relativamente recientes hacia el Norte de África y América, siguiendo la migración mucho más temprana en el tiempo de poblaciones de Asia (King et al., 2011). En la actualidad, continúa siendo motivo de discusión el impacto de las mezclas biológicas y sus ancestrías, por constituir éstas una fuente de especial importancia de la variación genética adaptativa y de la respuesta inmune en los humanos. En este marco, la investigación está prestando una particular atención a valorar los efectos del coronavirus de tipo 2, causante del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2). Su rápida expansión por toda la población humana mundial desde 2019 ha provocado la pandemia de COVID-19. En este sentido, Hebbel y Vercellotti (2020) hacen interesantes reflexiones e inferencias sobre la magnitud de la infección por CoV-2 (COVID-19) en EE. UU., con especial referencia a los efectos adversos entre los hispanos, americanos nativos y, especialmente, en los afroamericanos, por su alta mortalidad. Ante este escenario, los autores argumentan que la predisposición a padecer una

neumonía severa por COVID-19 entre los afroamericanos podría estar relacionada, en alguna medida, con el polimorfismo subyacente del grupo sanguíneo eritrocitario Duffy, es decir, a la presencia en sus genomas de la mutación puntual c1.-67T (rs2814778), la cual caracteriza al alelo *FY*O*. Bajo condiciones normales, los individuos con fenotipo Duffy negativo pueden provocar un efecto pro-inflamatorio al inducir una migración de leucocitos hacia el pulmón. Esta sería la razón principal de cómo el estatus Duffy negativo entre los afroamericanos no solo fomentaría una neumonía por COVID-19 sino que, además, acentuaría la magnitud de su severidad respecto a otros individuos afroamericanos caracterizados como Duffy-positivos. En este contexto, sería asimismo pertinente hacer referencia a los efectos del sistema Duffy y sus antígenos, sobre el VIH (Virus de la Inmunodeficiencia Humana). El impacto de la infección por VIH en aquellos individuos caracterizados como Duffy-negativos es significativamente más alta en relación con aquellos que son Duffy-positivos (ver He et al., 2008). Estas observaciones derivadas de la investigación nos estarían indicando, una vez más, el importante papel que tiene la genética sobre las enfermedades infecciosas, así como los factores de riesgo, asociados a ciertas poblaciones humanas, en clara correspondencia con sus composiciones genéticas.

Conclusiones

Los avances al conocimiento del grupo sanguíneo Duffy están teniendo importantes y decisivas repercusiones para la Hematología, la Antropología Física (Biológica), la Genética de Poblaciones y la Epidemiología. La caracterización serológica de los alelos Duffy y, más recientemente, el estudio molecular del gen *FY (DARC)*, han permitido identificar las diferentes aplicaciones de este sistema eritrocitario, en relación con respuestas adaptativas asociadas a ecosistemas particulares, el análisis de mezclas poblacionales y ancestría, el estudio de procesos de poblamiento y el entendimiento de la conexión de este sistema con la respuesta inmune. El alelo *FY*O (FY*B^{ES})* está siendo reconocido como la variante Duffy clave, por su predominancia en el oeste y el centro de África, y por su contrastada y directa relación

con la malaria “*vivax*”. Esta conexión se considera un atractivo y paradigmático ejemplo de co-evolución parásito-hospedador. Situaciones paralelas se han detectado en primates no-humanos con otras especies de *Plasmodium* (*P. knowlesi*). La aplicación de modernas tecnologías GWAs, basadas en el uso de paneles de SNPs de densidad variable, han confirmado de nuevo las asociaciones más conocidas entre los genes clásicos *FY*, *HBB* y *G6PD* y la malaria. Dentro de este escenario, también se han identificado nuevas variantes genéticas como las relacionadas con el grupo sanguíneo Dantu y con la respuesta inmune, entre otras. El sistema Duffy ha tenido históricamente un importante papel, debido a la geografía tan particular que exhibe el alelo *FY*O* en el análisis de procesos de mezclas poblacionales. La marcada asimetría en la representación de este alelo entre poblaciones de origen africano y europeo le convierte en un marcador estrella para estos objetivos y su base explicativa se encuentra de nuevo en presiones selectivas ambientales. El impacto de las mezclas biológicas y de sus ancestrías sobre la variación genética adaptativa y la respuesta inmune en los humanos está siendo hoy utilizado como un argumento sólido en la investigación acerca del impacto del polimorfismo subyacente del grupo sanguíneo eritrocitario Duffy, sobre la intensidad de los procesos infecciosos causados por el CoV-2 (COVID-19) y el VIH, entre individuos y grupos poblacionales con diferentes orígenes geográficos y composiciones genéticas.

Bibliografía

- Adams J., Ward R.H. (1973). Admixture studies and the detection of selection. *Science* 180: 1137-1143. doi: 10.1126/science.180.4091.1137.
- Babinet J., Tournamille C. (2015). Système Duffy (FY). En: P. Bailly, J. Chiaroni, D. Roubinet. (Eds.). *Les Groupes Sanguins Erythrocytaires*: 139-158. Libbey Eurotext. Montrouge.
- Bailly P., Chiaroni J., Roubinet F. (2015). *Les Groupes Sanguins Erythrocytaires*. Montrouge: John Libbey Eurotext.
- Barbosa de Carvalho G., Barbosa de Carvalho G. (2011). Duffy blood group system and the malaria adaptation process in humans. *Rev Bras Hematol Hemoter* 33(1): 55-64. DOI: 10.5581/1516-8484.20110016
- Bauduer F. (2013). Red cell polymorphisms and malaria: An evolutionary approach. *Bull Mem Soc Anthropol Paris* 25: 55-64. DOI: 10.1007/s13219-012-0060-8
- Bodmer W. (2015). Genetic characterization of human populations: From ABO to a genetic map of the British people. *Genetics* 199: 267-279. DOI: 10.1534/genetics.114.173062
- Brown C.A., Pappoe-Ashong P.J., Duah N., Ghansah A., Asmah H., Afari E. et al. (2021). High frequency of the Duffy-negative genotype and absence of *Plasmodium vivax* infections in Ghana. *Malar J* 20: 99. <https://doi.org/10.1186/s12936-021-03618-0>
- Butcher G.A., Mitchell G.H. (2018). The role of *Plasmodium knowlesi* in the history of malaria research. *Parasitology* 145: 6-17. doi: 10.1017/S0031182016001888.
- Butcher G.A., Mitchell G.H., Cohen S. (2010). *Plasmodium knowlesi* infections in a small number of non-immune natural hosts (*Macaca fascicularis*) and in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Trans R Soc Trop Med Hyg* 104: 75-77. doi: 10.1016/j.trstmh.2009.05.017.
- Cann R.L., Stoneking M., Wilson A.L. (1987). Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature* 325: 31-36. <https://doi.org/10.1038/325031a0>
- Castilho L., Rios M., Pellegrino J., Saad S.T.O., Costa F.F., Reid M.E. (2004). A novel FY allele in Brazilians. *Vox Sang* 87: 190-195. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2004.00554.x
- Cavalli-Sforza L., Menozzi P., Piazza A. (1994). *The History and Geography of Human Genes*. New Jersey: Princeton University Press.
- Culleton R.L., Ferreira P.E. (2012). Duffy phenotype and *Plasmodium vivax* infections in humans and apes, Africa. *Emerg Infect Dis* 18 (10): 1704-1705. doi: 10.3201/eid1810.120120
- Cutbush M., Mollison P.L., Parkin D.M. (1950). A new human blood group. *Nature* 165: 188-189.
- Chaudhuri A., Polyakova J., Zbrzezna V., Pogo A.O. (1995). The coding sequence of Duffy blood group gene in humans and simians: Restriction fragment length polymorphism, antibody and malarial parasite specificities, and expression in nonerythroid tissues in Duffy-negative individuals. *Blood* 85: 615-621.
- Chiaroni J., Ferrera V., Dettori I., Roubinet F. (2005). Groupes sanguins érythrocytaires. *EMC Hématologie* 2: 53-112. <https://doi.org/10.1016/j.emch.2005.04.001>
- Chown B., Lewis M., Kaita H. (1965). The Duffy blood group system in Caucasians: Evidence for a new allele. *Am J Hum Genet* 17: 384-389.
- Daniels G. (1981). *Human Blood Groups*. First Edition. Wiley-Blackwell. United Kingdom.
- Daniels G. (2002). *Human Blood Groups*. Second Edition. United Kingdom: Wiley-Blackwell.
- Domínguez-Andrés J., Netea M.G. (2019). Impact of historic migrations and evolutionary processes on human

- immunity. *Trends Immunol* 40 (12): 1105-1119. DOI: 10.1016/j.it.2019.10.001
- Donahue R.P., Bias W.B., Renwick J.H., McKusick V.A. (1968). Probable assignment of the Duffy blood group locus to chromosome 1 in man. *Proc Natl Acad Sc USA* 61: 949-955. DOI: 10.1073/pnas.61.3.949
- Fan S., Kelly D.E., Beltrame M.H., Hansen M.E.B., Mallick S., Ranciaro A. et al. (2019). African evolutionary history inferred from whole genome sequence data of 44 indigenous African populations. *Genome Biol* 20: 82. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1679-2>
- Fürst D., Tsamadou C., Neuchel C., Schrezenmeier H. (2020). Next-Generation Sequencing technologies in blood group typing. *Transfus Med Hemother* 47: 4-13. <https://doi.org/10.1159/000504765>
- Guerra C.A., Howes R.E., Patil A.P., Gething P.W., Van Boeckel T.P., Temperleyet W.H. et al. (2010). The international limits and population at risk of *Plasmodium vivax* transmission in 2009. *PLoS Negl Trop Dis* 4: e774. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000774>
- Hamblin M.T., Di Rienzo A. (2000). Detection of the signature of natural selection in humans: evidence from the Duffy blood group locus. *Am J Hum Genet* 66: 1669-1779. DOI: 10.1086/302879
- Hamid I., Korunes K.L., Bezeza S., Goldberg A. (2021). Rapid adaptation to malaria facilitated by admixture in the human population of Cabo Verde. *eLife* 10: e63177. doi: 10.7554/eLife.63177
- He W., Neil S., Kularni H., Wright E., Agan B.K., Marconi V.C. et al. (2008). Duffy antigen receptor for chemokines mediates trans-Infection of HIV-1 from red blood cells to target cells and affects HIV-AIDS susceptibility. *Cell Host Microbe* 4: 52-62. DOI: 10.1016/j.chom.2008.06.002
- Hebbel R.P., Vercellotti M. (2020). SARS-CoV-2 severity in African Americans – a role for Duffy null? *Haematologica* 105 (12): 2892. DOI: 10.3324/haematol.2020.269415
- Hedrick P.W. (2005). *Genetics of Populations*. Boston: Jones & Bartlett.
- Hedrick P.W. (2011). Population genetics of malaria resistance in humans. *Heredity* 107: 283-304.
- Hirschfeld H., Hirschfeld L. (1919). Serologic differences between bloods of different races. *Lancet* 5016: 675-678.
- Hodgson J.A., Pickrell J.K., Pearson L.N., Quillen E.E., Prista A., Rocha J. et al. (2014). Natural selection for the Duffy-null allele in the recently admixed people of Madagascar. *Proc Biol Sci*. 281: 20140930. DOI: 10.1098/rspb.2014.0930
- Höher G., Fiegenbaum M., Almeida S. (2018). Molecular basis of the Duffy blood group system. *Blood Transfusion* 16: 93-100. DOI: 10.2450/2017.0119-16
- Howes R.E., Patil A.P., Piel F.B., Nyangiri O.A., Kabaria C.W., Gething P.W. et al. (2011). The global distribution of the Duffy blood group. *Nat Commun* 2: 266. DOI: 10.1038/ncomms1265
- Ikin E.W., Mourant A.E., Pettenkoffer H.J., Blumenthal G. (1951). Discovery of the expected haemagglutinin, anti-Fyb. *Nature* 168: 1077-1078. DOI: 10.1038/1681077b0
- Iwamoto S., Li J., Sugimoto N., Okuda H., Kajii E. (1996). Characterization of the Duffy gene promotor: Evidence for tissue-specific abolishment of expression in Fy (a-b-) of black individuals. *Biochem Biophys Res Commun* 222: 852-859. DOI: 10.1006/bbrc.1996.0833
- Kano F.S., de Souza A.M., de Menezes Torres L., Azevedo Costa M., Souza-Silva F.A., Marinho Sanchez B.A. et al. (2018). Susceptibility to *Plasmodium vivax* malaria associated with DARC (Duffy antigen) polymorphisms is influenced by the time of exposure to malaria. *Sci Rep* 8: 13851. DOI: 10.1038/s41598-018-32254-z
- Kariuki S.N., Williams T.N. (2020). Human genetics and malaria resistance. *Hum Genet*. 139: 801-811. DOI: 10.1007/s00439-020-02142-6
- King C.L., Adams J.H., Xianli J., Grimberg B.T., McHenry A.M., Greenberg L.J. et al. (2011). Fya/Fyb antigen polymorphism in human erythrocyte Duffy antigen affects susceptibility to *Plasmodium vivax* malaria. *Proc Natl Acad Sc USA* 108: 20113-20118. DOI: 10.1073/pnas.1109621108
- Ku C.S., Loy Y., Salim A., Pawitan Y., Chia K.S. (2010). The discovery of human genetic variations and their use as disease markers: past, present and future *J Hum Genet* 55: 403-415. DOI: 10.1038/jhg.2010.55
- Kundu S., Ghosh S.K. (2015). Trend of different molecular markers in the last decades for studying human migrations. *Gene* 556: 81-90. doi: 10.1016/j.gene.2014.12.023.
- Landsteiner K. (1900). Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. *Centralbl Bakt* 27: 357-362.
- Lerut E., Van Damme B., Noizat-Pirenne F., Emonds M.P., Rouger P., Vanrenterghem Y. et al. (2007). Duffy and Kidd blood group antigens: Minor histocompatibility antigens involved in renal allograft rejection? *Transfusion* 47: 28-40. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2007.01060.x
- Lewontin R.C. (1972). The apportionment of human diversity. En: T.H. Dobzhansky, M.K. Hecht W.C. Steere, (Eds.). *Evolutionary Biology*: 381-398. Appleton-Century-Crofts. New York.
- Liu W., Li Y., Katharina S., Shaw K.S., Learn G.H., Plenderleith L. J. et al. (2014). African origin of the malaria parasite *Plasmodium vivax*. *Nat Commun* 5: 3346. DOI: 10.1038/ncomms4346
- Llamas B., Willerslev E., Orlando L. (2016). Human evolution: a tale from ancient genomes. *Phyl Trans R Soc B* 372: 20150484. DOI: 10.1098/rstb.2015.0484

- López G.H., Condon J.A., Wilson B., Martin J.R., Liew Y.W., Flower R.L. et al. (2015). A novel FY*A allele with the 265T and 298A SNPs formerly associated exclusively with the FY*B allele and weak Fyb antigen expression: Implication for genotyping interpretative algorithms. *Vox Sang* 108: 52-57. DOI: 10.1111/vox.12185
- Lukasik E., Waśniowska K., Grodecka M., Majorczyk E., Czerwiński M. (2015). High-resolution melting analysis for genotyping Duffy blood group antigens. *Methods Mol Biol* 1310: 83-95. DOI: 10.1007/978-1-4939-2690-9_7
- Mallinson G., Burgess G., Hook S., Murphy M., Poole J., Anstee D.J. (1995). A Caucasian individual with the Fy(a-b-) phenotype has a novel defect in the FY gene. *Transfus Med* 5:19.
- Mathew S., Chaudhuri A., Murty V.V., Pogo A.O. (1994). Confirmation of Duffy blood group antigen locus (FY) at 1q22-->q23 by fluorescence in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 67: 68. DOI: 10.1159/000133801
- Mazières S., Chiaroni J. (2015). Répartition des groupes sanguins dans les populations humaines. En: P. Bailly, J. Chiaroni D. Roubinet. (Eds.). *Les Groupes Sanguins Erythrocytaires*: 361-376. John Libbey Eurotext. Montrouge.
- McManus K.F., Taravella A.M., Henn B.M., Bustamante C.D., Sikora M., Cornejo O.E. (2017). Population genetic analysis of the DARC locus (Duffy) reveals adaptation from standing variation associated with malaria resistance in humans. *PLoS Genet* 13: 48-65. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006560
- Ménard D., Barnadas C., Bouchier C., Henry-Halldin C., Gray L.R., Ratsimbaoa A. et al. (2010). Plasmodium vivax clinical malaria is commonly observed in Duffy-negative Malagasy people. *Proc Natl Acad Sc USA* 107: 5967-5971. DOI: 10.1073/pnas.0912496107
- Mourant A.E. (1954). *The Distribution of the Human Blood Groups*. Oxford: Blackwell Scientific.
- Mourant A.E., Kopec A.C., Domaniewska-Sobczak K. (1976). *The Distribution of the Human Blood Groups*. New York: Oxford University Press.
- Murphy M.T., Templeton L.J., Fleming J., Ferguson M., Peterkin M., Fraser R.H. (1997). Comparison of Fyb status as determined serologically and genetically. *Transfus Med* 7: 135-141.
- Narboux C., Hennion M., Peyrard T., Le Marechal C., Jamet D., Dupont I. et al. (2013). Étude de la fréquence des phénotypes RH1 faible et partiel dans la population des donneurs de sang à l'EFS Nord-de-France. *Transfus Clin Biol* 20: 295-369. Doi : 10.1016/j.tycli.2013.03.111
- Oliveira T.Y., Harris E.E., Meyer D., Jue C.K., Silva W.A. (2012). Molecular evolution of a malaria resistance gene (DARC) in primates. *Immunogenetics* 64: 497-505. DOI: 10.1007/s00251-012-0608-2
- Olsson M.L., Smythe J.S., Hansson C., Poole J., Mallinson G., Jones J. et al. (1998). The Fy(x) phenotype is associated with a missense mutation in the Fy(b) allele predicting Arg89Cys in the Duffy glycoprotein. *Br J Haematol* 103: 1184-1191. DOI: 10.1046/j.1365-2141.1998.01083.x
- Omenn G.S. (2010). Evolution and Public Health. *Proc Natl Acad Sc USA* 107(106):1702-1709. DOI: 10.1073/pnas.0906198106
- Pakendorf B., Stoneking M. (2005). Mitochondrial DNA and human evolution. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 6: 165-183. DOI: 10.1146/annurev.genom.6.080604.162249
- Parra E.J., Marcini A., Akey J., Martinson J., Batzer M.A., Cooper R. et al. (1998). Estimating African American admixture proportions by use of population-specific alleles. *Am J Hum Genet* 63: 1839-1851. DOI: 10.1086/302148
- Prohaska A., Racimo F., Schork A.S., Sikora M., Stern A.J., Ilardo M. et al. (2019). Human disease variation in the light of population genomics. *Cell* 177 (21): 115-131. DOI: 10.1016/j.cell.2019.01.052
- Reid M.E., Lomas-Francis C., Olsson M.L. (2012). *The Blood Group Antigen FactsBook*. Elsevier Science & Technology: Oxford.
- Roychoudhury A.K., Nei M. (1988). *Human Polymorphic Genes: World Distribution*. New York: Oxford University Press.
- Ryan J.R., Stoute J.A., Amon J., Dunton R.F., Mtalib R., Koros J. (2006). Evidence for transmission of Plasmodium vivax among a Duffy antigen negative population in Western Kenya. *Am J Trop Med Hyg* 75(4): 575-581.
- Sanger R., Race R.R. Jack J. (1955). The Duffy blood groups of New York Negroes: The Phenotype Fy(a-b-). *Br J Haematol* 1: 370-374. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1955.tb05523.x
- Schlebusch C.M., Jakobsson M. (2018). Tales of human migration, admixture, and selection in Africa. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 19: 405-428. DOI: 10.1146/annurev-genom-083117-021759
- Schlötterer C. (2004). The evolution of molecular markers-- just a matter of fashion? *Nat Rev Genet* 5(1): 63-69. DOI: 10.1038/nrg1249
- Steinberg A.G., Cook C.E. (1981). *The Distribution of the Human Immunoglobulin Allotypes*. Oxford: Oxford University Press.
- Stong R.C., Stone W.H. (1980). The human Duffy blood group in rhesus monkeys. *Anim Blood Groups Biochem Genet* 11 (3): 185-192. DOI: 10.1111/j.1365-2052.1980.tb01506.x
- Storry J.R., Jöud M., Olsson M.L. (2019). Automatic for the people: a rapidly evolving movement for the future of genotyping. *Transfusion* 59 (11): 3545-3547. DOI: 10.1111/trf.15561

- Storry J.R., Olsson M.L. (2004). Genetic basis of blood group diversity. *B J Haem* 126 (6): 759-771. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05065.x
- Tanaka M., Takahashi J., Hirayama F., Tani Y. (2011). High-resolution melting analysis for genotyping Duffy, Kidd and Diego blood group antigens. *Leg Med* 13: 1-6. DOI: 10.1016/j.legalmed.2010.08.004
- Templeton A.R. (2019). *Human Population Genetics and Genomics*. London: Academic Press.
- Tills D., Kopec A.C. Tills R.E. (1983). *The Distribution of the Human Blood Groups and other Polymorphisms*. Oxford: Oxford University Press.
- Tishkoff S.A., Verrelli B.C. (2003). Patterns of human genetic diversity: implications for human evolutionary history and diseases. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 4: 293-400. DOI: 10.1146/annurev.genom.4.070802.110226
- Tournamille C. (2000). Bases moléculaires et relations structure-fonction des antigènes de groupe sanguin Duffy: Récepteur de chimiokines et de *Plasmodium vivax*. *Transfus Clin Biol* 7: 497-509. DOI: 10.1016/s1246-7820(00)80038-5
- Tournamille C., Colin Y., Cartron J.P., Le Van Kim C. (1995a). Disruption of a GATA motif in the Duffy gene promoter abolishes erythroid gene expression in Duffy-negative individuals. *Nat Genet* 10: 224-228. DOI: 10.1038/ng0695-224
- Tournamille C., Le Van Kim C., Gane P., Cartron J.P., Colin Y. (1995b). Molecular basis and PCR-DNA typing of the Fya/Fyb blood group polymorphism. *Hum Genet* 95: 407-410. DOI: 10.1007/BF00208965
- Tournamille C., Le Van Kim C., Gane P., Le Pennec P.Y., Roubinet F., Babinet J. et al. (1998). Arg89Cys Substitution Results in Very Low Membrane Expression of the Duffy Antigen/Receptor for Chemokines in Fyx Individuals. *Blood* 92: 2147-2156.
- Vasseur E., Quintana-Murci L. (2013). The impact of natural selection on health and disease: uses of the population genetics approach in humans. *Evol Appl* 6 (4): 597-607. DOI: 10.1111/eva.12045
- Veeramah K.R., Hammer M.F. (2014). The impact of whole-genome sequencing on the reconstruction of human population history. *Nat Rev Genet* 15: 149-162. DOI: 10.1038/nrg3625
- Von Dungern E., Hirschfeld W. (1910). Ueber Vererbung gruppenspezifischer Strukturen des Blutes. *Zeitschrift für Immunitätsforschung* 6: 284-292.
- Wittwer C.T., Reed G.H., Gundry C.N., Vandersteen J.G., Pryor R.J. (2003). High-resolution genotyping by amplicon melting analysis using LCGreen. *Clin Chem* 49: 853-860. DOI: 10.1373/49.6.853
- Zimmerman P.A., Ferreira M.U., Howes R.E., Mercereau-Puijalon O. (2013). Red blood cell polymorphism and susceptibility to *Plasmodium vivax*. *Adv Parasitol* 81: 27-76. DOI: 10.1016/B978-0-12-407826-0.00002-3
- Zimmerman, P.A., Woolley, I., Masinde, G.L., Miller, S.M., McNamara, D.T., Hazlett, F. et al. (1999). Emergence of FY*A null in a *Plasmodium vivax*-endemic region of Papua New Guinea. *Proc Natl Acad Sc USA* 96: 13973-13977. DOI: 10.1073/pnas.96.24.13973