

ASOCIACION DEL CROMOSOMA RHESUS CDe (R₁) CON SALMONELLA TYPHI IN VIVO

Association of Rhesus chromosome CDe with Salmonella typhi "in vivo"

RICARDO CRUZ-COKE, ENRIQUE LAVAL, ATILIO MENDOZA y
ANA MONTENEGRO

Departamento de Genética Médica, Cátedra B de Medicina Hospital J. J. Aguirre. Universidad de Chile, Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Hospital de Enfermedades Infecciosas, Santiago, y Laboratorio de Grupos Sanguíneos, Instituto Bacteriológico de Chile. Servicio Nacional de Salud. Santiago.

Recibido para su publicación el 22 de Marzo de 1967.

RESUMEN

Se estudia la asociación entre los grupos sanguíneos ABO, MN y Rhesus y los microorganismos causales de la fiebre tifoidea, (Salmonellas) en una muestra consecutiva de 360 pacientes admitidos al Hospital de Enfermedades Infecciosas de Santiago, Chile, durante los dos meses de mayor incidencia estacional de dicha enfermedad. Los sistemas ABO y MN están en equilibrio genotípico de acuerdo con la Ley de Hardy-Weinberg, no así el sistema Rhesus, por lo cual se sugiere que algún factor perturbador pudiera estar operando en la muestra. El estudio de las probabilidades condicionales de la asociación entre los cromosomas del sistema Rhesus y la Salmonella Typhi, reveló que los sujetos portadores del cromosoma CDe (R₁) tenían una probabilidad 76% mayor que los sujetos no portadores de R₁ en contraer la infección con Salmonella Typhi. Esta asociación es estadísticamente significativa y mayor que la encontrada entre otros grupos sanguíneos y otras enfermedades. Se discute el significado de esta asociación a la luz de la hipótesis que las enfermedades infecciosas son agentes activos de la selección natural.

INTRODUCCIÓN

Algunos investigadores han planteado la hipótesis que las enfermedades infecciosas son agentes activos de la selección natural (1, 2). Las pruebas que se han presentado son, sin embargo, limitadas y débiles (1, 2, 3, 4) y se basan indirectamente en la existencia de diferencias significativas en la distribución de los caracteres genéticos en las poblaciones humanas afectadas por enfermedades infecciosas específicas.

Es muy difícil diseñar un experimento médico para analizar este problema. A nivel clínico hay muchos factores ecológicos que afectan la resistencia de los individuos a las infecciones. Como las enfermedades infecciosas son entidades fenotípicas complejas, un experimento que analice la asociación entre un carácter genético y una enfermedad debe tomar en

cuenta otros parámetros no genéticos. Por esto creemos que la asociación entre un gen y una infección debe ser estudiada más bien en relación directa con la presencia de un microorganismo, que en relación con la existencia de una entidad clínica.

En una investigación anterior (4) usando el método anterógrado monofactorial de Li (5), realizamos un estudio de asociación de grupos sanguíneos con microorganismos del tracto urinario del hombre y encontramos una asociación significativa entre el Grupo B y la especie *Escherichia coli*. Buscando nuevas pruebas indirectas de la hipótesis señalada, hemos creído conveniente estudiar este problema entre grupos sanguíneos y la especie *Salmonella typhi*, de tan alta frecuencia en la población de Santiago.

La especie bacteriana *S. typhi* es parásito estricto del hombre y la causa especí-

TABLA I

Distribución de la muestra por edad y sexo

Edad (años)	Varones	Mujeres
5 - 9	16	18
10 - 14	32	30
15 - 19	52	38
20 - 24	43	27
25 - 29	23	17
30 - 34	12	11
35 - 39	16	8
40 - 44	3	2
45 - 49	0	2
sobre 50	6	4
Totales	203	157

fica de la fiebre tifoidea. Aunque la fiebre tifoidea epidémica ha sido eliminada ya hace tiempo en los países industrializados, debido a las adecuadas medidas sanitarias, permanece aún en forma endémica en los países en vías de desarrollo. En Santiago, la prevalencia de la fiebre tifoidea es muy alta, pues las tasas de morbilidad están cercanas de 100 por 100.000 habitantes y las tasas de mortalidad sobre 1,5 por 100.000 (6). La incidencia estacional presenta una cúspide en verano y la distribución de la mortalidad está fuertemente relacionada con la temperatura media y las horas de sol mensuales. Durante la década del cincuenta, la mortalidad disminuyó de una tasa de 15 hasta menos de 2 por 100.000, debido a la introducción de la terapia con cloranfenicol. Pero a este descenso no ha seguido una disminución de la morbilidad.

Como la edad promedio de la mortalidad por fiebre tifoidea en Santiago es de 17,9 años, una proporción importante de jóvenes no alcanzaba la etapa de la vida reproductiva (15-44 años), lo cual muestra una presión selectiva importante. Con el declinar de la mortalidad y la mantención de alta morbilidad, una gran proporción de jóvenes puede ahora sobrevivir y reproducirse, relajando las presiones selectivas por diferencias de mortalidad.

MATERIAL Y MÉTODO

El material incluye a los 360 pacientes admitidos en el Hospital de Enfermedades Infecciosas de Santiago, durante Enero y Febrero de 1966. Estos dos meses corresponden a la cúspide de incidencia de la fiebre tifoidea.

La Tabla I presenta la distribución de la muestra por edad y sexo.

Se realizaron los siguientes estudios especiales en los dos primeros días de hospitalización: (a) Determinación del lugar de nacimiento del sujeto y de sus antecesores y estimación de la consanguinidad parental; (b) determinación del hemocultivo con medios especiales para investigar *S. typhi*, y (c) determinación de los grupos sanguíneos ABO, MN y Sistema Rhesus, con cinco antisueros.

La frecuencia de los sistemas ABO y MN se calculó de acuerdo con Li (5) y la del sistema Rhesus, según Mourant (7). El análisis estadístico de las probabilidades condicionales y de los riesgos relativos se realizó en la forma señalada en un trabajo anterior (4).

RESULTADOS

La Tabla II muestra la frecuencia observada de los grupos sanguíneos ABO y MN y la estimada de sus alelos. La distribución genotípica de ambos loci está en equilibrio, de acuerdo con la Ley de Hardy-Weinberg. La Tabla III muestra

TABLA II

Estimación de las frecuencias génicas de los alelos de los sistemas ABO* y MN**

	Número	Frecuencia
Sistema ABO		
Fenotipos		
Grupo A	122	0,338888
Grupo B	33	0,091667
Grupo AB	6	0,016666
Grupo O	199	0,552779
	360	1,000000
Alelos		
(p) I _A		0,197579±0,0155
(q) I _B		0,055819±0,0086
(r) I _O		0,746602±0,0170
Sistema MN		
Fenotipos		
Grupo MM	140	0,388888
Grupo MN	177	0,491666
Grupo NN	43	0,119444
	360	1,000000
Alelos		
(m) L _M		0,634722±0,024
(n) L _N		0,365277±0,024
		0,999999

Equilibrios genotípicos:

* Sistema ABO: Taylor y Prior $\chi^2 = 0,624$ $P > 0,10$ ** Sistema MN: Fisher $\chi^2 = 1,30$ $P > 0,10$

TABLA III

Distribución de los genotipos más probables y estimación de las frecuencias cromosómicas del Sistema Rhesus

Fenotipo	Genotipo más probable		Número	Frecuencia
	Fisher	Wiener		
CC D ee	CDe/CDe	R ₁ R ₁	96	0,266667
Cc D EE	CDe/cDE	R ₁ R ₂	85	0,063889
cc D EE	cDE/cDE	R ₂ R ₂	23	0,036111
cc d ee	cde/cde	r r	13	0,236112
Cc D ee	CDe/cde	R ₁ r	83	0,230556
cc D Ee	cDE/cde	R ₂ r	46	0,127778
cc D ee	cDe/cde	R ₀ r	12	0,033333
CC D Ee	CDE/CDe	R _z R ₁	1	0,002777
Cc D EE	CDE/cDE	R _z R ₂	1	0,002777
			360	1,000000
Frecuencias cromosómicas estimadas				
		cDe R ₀ (p)		0,070860
		CDe R ₁ (q)		0,498700
		cDE R ₂ (r)		0,242534
		CDE R _z (s)		0,002688
		cde r (t)		0,183218
				1,000000

Condición de equilibrio genotípico $\chi^2 = 50,7$; 10 grados de libertad; $P < 0,001$.

la distribución de los genotipos más probables y la estimación de las frecuencias cromosómicas del sistema Rhesus. La muestra no está en equilibrio de Hardy-Weinberg con respecto al sistema Rhesus.

El hemocultivo se practicó en 276 pacientes, y fue positivo en 100 (36,2%); 87 de ellos eran *S. typhi*, 9 *S. paratyphi* y 4 *S. shottmullerii*. El hemocultivo no se practicó en 84 de los 360 pacientes, porque los médicos tratantes consideraron que estos pacientes presentaban enfermedades infecciosas sin relación alguna con fiebre tifoidea y donde no había dudas respecto al diagnóstico.

Las Tablas IV y V muestran la distribución de los fenómenos de los loci ABO y MN, y de los genotipos del sistema Rhesus en relación con el hemocultivo, en la población total y en la población nacida en Santiago. La Tabla VI muestra asimismo la distribución de la frecuencia de la consanguinidad parental en los diversos grupos señalados. Hay un exceso de fenotipos CCDee (R₁R₁) en relación a la positividad del hemocultivo, que no es afectado por la estratificación según el lugar de nacimiento.

La Tabla VII muestra los grados de asociación y la correlación entre los genotipos con cromosoma CDe (R₁) y la Salmonella, comparado con los otros genotipos en exceso (OO y MM).

TABLA IV

Distribución de los fenotipos de los loci ABO, MN y los genotipos del sistema Rhesus en relación a la positividad del hemocultivo de Salmonella

Fenotipos	Hemocultivo de Salmonella	
	Positivo	Negativo
	Nº	Nº
A	32	64
B	9	13
AB	0	5
O	59	94
	100	176
MM	41	68
MN	49	82
NN	10	26
	100	176
Genotipos		
R ₁ R ₁	31	38
R ₁ R ₂	28	38
R ₂ R ₂	4	13
r r	2	9
R ₁ r	23	41
R ₂ r	10	28
R ₀ r	2	7
R _z R ₁	0	1
R _z R ₂	0	1
	100	176

TABLA V

Distribución de los fenotipos de loci ABO y MN y de los genotipos Rhesus en relación al hemocultivo en los sujetos nacidos en Santiago

Fenotipos	Hemocultivo de <i>Salmonella</i>	
	Positivo Nº	Negativo Nº
A	16	29
B	4	7
AB	0	3
O	29	46
	49	85
MM	21	34
MN	22	42
NN	6	11
	49	87
Genotipos		
R ₁ R ₁	15	20
R ₁ R ₂	15	21
R ₂ R ₂	1	6
r r	0	4
R ₁ r	15	21
R ₂ r	1	10
R ₀ r	2	3
	49	85

Solamente se encontró una asociación significativa entre el cromosoma CDe (R₁) y la *Salmonella*. Los dos pacientes que fallecieron por bacteremia con *Salmonella* eran portadores de cromosoma R₁.

DISCUSIÓN

La distribución de las frecuencias génicas de los sistemas ABO y MN está de acuerdo con el estudio anterior (4). La edad, sexo y otras características clínicas de la muestra también son similares a un estudio anterior de Borgoño (8). La muestra es seleccionada de la población general, pero dentro de la población hospitalaria de Santiago está tomada al azar.

Los subgrupos de pacientes con hemocultivo positivo o negativo son comparables según la consanguinidad, el lugar de nacimiento y la distribución de los grupos sanguíneos ABO y MN. De este modo las diferencias significativas encontradas no pueden atribuirse a estratificación étnica. El exceso de cromosoma R₁ en los hemocultivos positivos se mantiene al considerar a los sujetos nacidos en Santiago, separadamente del total de la muestra. Los alelos I_A y L_M en la población chilena son buenos indicadores de la hibridación amerindia-caucasoide y permiten, con alta probabilidad, excluir la existencia de diferencias étnicas entre los subgrupos con hemocultivo positivo y hemocultivo negativo.

Infortunadamente no ha sido posible analizar directamente las presiones selectivas por diferencias de fecundidad en la muestra, debido a que la proporción de mujeres que han completado el ciclo de vida reproductivo, según la Tabla I, alcanza apenas al 5% del total, debido a que la enfermedad afecta a las generaciones jóvenes.

TABLA VI

Distribución de la frecuencia de la consanguinidad parenteral en la muestra de pacientes hospitalizados

Consanguinidad parental(1)	Salmonella positivo	Salmonella negativo	Sin hemocultivo
Presente	2	5	3
Ausente	73	135	61
Ignoradas	25	36	20
Total	100	176	84
Sub-total datos conocidos	75	140	64
Porcentaje de consanguinidad(1)	2,6	3,5	4,6

(1) Primos hermanos y parentesco indefinido más lejano.

TABLA VII

Asociación y susceptibilidad relativa a la *Salmonella* de los individuos con diversos fenotipos y genotipos Rhesus

	Nº	x	χ^2	P	r	P
R ₁ versus no-R ₁	276	1,76	7,63	0,01	0,166	0,01
MM versus NN	145	1,35	1,14	0,10	0,088	0,10
O versus no-O	276	1,15	0,80	0,10	0,053	0,10

x, susceptibilidad relativa.

χ^2 , Test de Ji cuadrado.

r, coeficiente de correlación $\sqrt{\chi^2/N}$.

Se conoce la complejidad del sistema Rhesus. Sin embargo, para analizar la muestra en este estudio suponemos, de acuerdo con Fisher (9), que el sistema Rhesus está formado por seis genes principales, ligados muy juntos en series de tres, dando 8 tipos de complejos génicos (cromosomas rhesus). Es posible estimar la frecuencia de estos cromosomas, suponiendo que la población está en un equilibrio de Hardy-Weinberg con respecto al sistema Rhesus. Pero en esta muestra, escogida al azar en relación a los sistemas ABO y MN, los genotipos más probables del sistema Rhesus no están en equilibrio génico. Esto sugiere la posibilidad que algunos factores estén operando en la población en relación directa con el sistema Rhesus.

Nuestra investigación muestra claramente que los sujetos con cromosoma CDe (R₁) tienen una probabilidad 76% mayor que aquellos sujetos sin R₁ de hallazgo de una bacteremia por *S. typhi*. Esta relativa susceptibilidad es más significativa que la encontrada por nosotros (4) entre el grupo B y la *E. coli*.

No se ha aclarado aún suficientemente el significado biológico de la asociación entre un gen y una enfermedad. Recientemente Edwards (10), estudiando este problema en términos cuantitativos, ha estimado que la contribución de los genes a la varianza total de la enfermedad "asociada", es del orden del 1 a 2%. Esto indicaría que la participación de un gen en la susceptibilidad a la enfermedad es mínima, por lo cual muestra la existencia de un componente genético muy pequeño en la etiología del proceso. A la luz de esta estimación, nuestros resultados estarían dentro del mismo orden.

Creemos, sin embargo, que si apreciamos este problema desde un punto de vista antropológico secular, podríamos abrir nuevas interrogantes. La Tabla VIII muestra como el cromosoma R₁ tiene un gradiente entre la población amerindia y la caucasoide. La población amerindia precolombina estaba compuesta principalmente por cromosomas rhesus R₁ y R₂ (11) y la fiebre tifoidea no existía. Los invasores caucásicos trajeron consigo el cromosoma r (cde) y la *Salmonella*. Las

TABLA VIII

Distribución de las frecuencias de los cromosomas Rhesus en relación a diversas poblaciones y al hemocultivo positivo de *Salmonella*

	R ₀ cDe	R ₁ CDe	R ₂ cDE	R _z CDE	r cde	R' Cde	R'' cdE
Poblaciones							
Ingleses (1)	0,0257	0,4076	0,1411	0,0024	0,3886	0,0098	0,1190
Chilenos (2)	0,0360	0,4690	0,1930	0	0,2500	0,0039	0,0080
Araucanos (2)	0,0210	0,6930	0,2550	0	0	0	0
Hemocultivo							
Positivo	0,0563	0,5650	0,2300	0	0,1487	0	0
Negativo	0,0740	0,4390	0,2590	0,0030	0,2250	0	0
Muestra total	0,0708	0,4987	0,2425	0,0026	0,1832	0	0

(1) Race y Sanger (1962).

(2) Nagel y Soto (1964).

pandemias y la letalidad de 20% diezmaron a la población amerindia joven, por lo cual, probablemente, se desarrolló un proceso de selección natural, por diferencias de mortalidad.

Nuestro hallazgo, se correlaciona con el gradiente de hibridización. El cromosoma R_1 en los hemocultivos positivos tiene una frecuencia más cercana a la amerindia que a la caucasoides, en tanto que el cromosoma R_2 parece más bien neutro.

Evidentemente que el flujo génico del cromosoma r desde Europa ha sido factor fundamental en fijar la distribución de las frecuencias cromosómicas en el sistema Rhesus en la población chilena (12). Pero esta concordancia tan significativa nos abre el interrogante de la posibilidad que las presiones selectivas sobre el cromosoma R_1 hayan influido suficientemente en fijar la actual estructura del sistema Rhesus en Chile.

SUMMARY

Although epidemic typhoid fever is largely eliminated in industrialized countries, the disease remains in endemic form in countries as Chile where morbidity rates are close to 100 per 100.000 inhabitants. During the decade of fifties mortality rates for typhoid fever had decreased from 15 to less than 2 per 100.000, relaxing-selection pressure by mortality differences. We have showed (4) that selective forces which influence blood groups polymorphisms are active at present time. We were interested in studying selective pressure which influences other blood groups polymorphism. We studied a sample of 360 patients admitted to hospital, and we "marked" them with three autosomic loci (ABO, MN, and Rhesus system), and blood was cultured to asses the

association of genes with *Salmonella typhi* in vivo.

Our sample was not in equilibrium condition (Hardy Weinberg) with respect to Rhesus system. This would suggest the possibility that some disturbing factor may be operating. Our investigation shows that the subjects with chromosome CDe (R_1) had a probability 76% higher (Table VI) than that of non- R_1 subjects of contracting Salmonella infection. The chromosome R_1 has an increasing frequency from europeans to amerindian populations (Table VIII). As the European carried chromosome *cde* (r) and *Salmonella* to America, it is possible that the relative low frequency of chromosome R_1 in the chilean population could be due to the action of *Salmonella* on a highly susceptible Rhesus genotype.

REFERENCIAS

- 1.—LIVINGSTONE, F. B. — Human Biol. 32: 1960.
- 2.—SCHULL, W. J. — Genetic selection in man. Univ. Chicago Press. 1963.
- 3.—EICHNER, E. R., FINN, R. y KREVANS, J. R. — Nature (London) 198:164, 1963.
- 4.—CRUZ-COKE, R., PAREDES, L. y MONTENEGRO, A. — J. Med. Genet. 2:185, 1965.
- 5.—LI, C. C. — Human Genetics. Mc Graw Hill. New York. 1961.
- 6.—BORGOÑO, J. M. — Rev. Méd. Chile. 86: 413, 1958.
- 7.—MOURANT, A. E. — The distribution of human blood groups. Blackwell's Oxford. 1954.
- 8.—BORGOÑO, J. M. y PEARSON, E. — Rev. Méd. Chile. 93:145, 1965.
- 9.—FISHER, R. A. — Proc. Royal Soc. B. 141:510, 1953.
- 10.—EDWARDS, J. H. — Ann. human Genet. (London) 29:77, 1966.
- 11.—NEEL, J. V. y SALZANO, F. M. — Cold Spring Harbor Symposia on quantitative biology. 24:85, 1964.
- 12.—NAGEL, R. y SOTO, O. — Am. J. Phys. Anthropol. 22:335, 1964.