

# ESTUDIO DE SITIOS FRÁGILES CROMOSÓMICOS EN UNA POBLACIÓN DE CARTAGO, COSTA RICA

**Dra. Norma Handal \***  
**MSc. María C. Matamoros \*\***  
**Licda. Marta E. Cruz \*\***  
**Dr. Ramiro Barrantes \*\*\***

## RESUMEN

Se realizó un análisis citogenético de sitios frágiles en un grupo de 20 pacientes esquizofrénicos de la provincia de Cartago, Costa Rica, utilizando un diseño de investigación de casos y controles. Las frecuencias más altas de sitios frágiles fueron detectadas en los cromosomas 3 y 6. Estos resultados son semejantes a los de otras series estudiadas. El porcentaje de fracturas totales (sitios frágiles más otras fracturas) no difieren entre los casos y el grupo testigo. Tampoco se encuentran diferencias significativas entre los grupos con relación a los sitios frágiles cuando se consideran cromosomas separados. Ciertas variables concomitantes estudiadas como sexo, edad, tabaquismo, alcoholismo e ingesta de medicamentos no incidieron en las frecuencias de sitios frágiles en ambos grupos. Se consideran las posibilidades de la investigación de sitios frágiles y su relación con la esquizofrenia.

## SUMMARY

A cytogenetic analysis of fragile sites was carried out in twenty schizophrenic patients from Cartago Province, Costa Rica, using a research case control design. The highest frequencies of fragile sites were found in chromosomes 3 and 6. Those results are similar to other series studied. The percentages of total fractures (fragile sites plus another fractures) do not show significant differences between cases and controls. The same situation was detected in relation to the separated chromosomes. Some concomitant variables such as sex, age, tabaquism, alcoholism and drug ingestion did not have any incidence on the frequencies of fragile sites in both groups. The research strategies on fragile sites and its relationship with schizophrenia are discussed.

## INTRODUCCION

Existe una fuerte evidencia empírica de que la esquizofrenia tiene un alto componente genético, como se muestra en estudios hechos en familiares, en gemelos mono y dicigóticos y en in-

\* Instituto Nacional de Seguros (INS)  
 \*\* Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA)  
 \*\*\* Instituto de Investigaciones en Salud (INISA)

individuos adoptados. Sin embargo, los estudios de heredabilidad indican la existencia de otros componentes característicos de esta enfermedad. Uno de los enfoques genéticos involucra el análisis cromosómico de sitios frágiles; se han relacionado éstos al cromosoma 3, en pacientes esquizofrénicos (9); no obstante, este hecho es controversial puesto que también se ha encontrado en pacientes normales (4,10). Por lo tanto, se hacen necesarios más estudios para lograr determinar con claridad las posibles relaciones entre la presencia de sitios frágiles y aquella dolencia.

De acuerdo con Sutherland (11), un sitio frágil es un punto específico en un cromosoma, que presenta las siguientes características:

**a.** Porción no teñida del cromosoma (gap) de ancho variable, la cual usualmente involucra ambas cromátidas.

**b.** El sitio ocupa siempre, exactamente el mismo punto en el cromosoma tanto en células del mismo individuo, como de distintos individuos portadores del sitio.

**c.** El sitio se hereda en forma mendeliana autosómica dominante. Por otra parte, estudios más recientes sugieren que algunos sitios frágiles presentan herencia condominante (6, 12).

Los sitios frágiles son inducidos por diferentes condiciones del medio, como son: deficiencia de ácido fólico, pH, presencia de distamycin A, Bromodioxyuridina, 5 fluorodioxyuridina (1, 2, 9, 11, 13, 14). Sin embargo, la naturaleza del sitio frágil ha sido muy discutida o, se postularon diferentes teorías que tratan de explicar el origen y naturaleza del mismo (1, 2, 3, 8).

**d.** La fragilidad se hace evidente, mediante la producción de fragmentos acéntricos, cromosomas con deleciones, trirradios, bajo condiciones apropiadas.

Es nuestro objetivo en este trabajo determinar la frecuencia y posible relación entre sitios frágiles y esquizofrenia en un grupo de pacientes con esta dolencia provenientes de la provincia de Cartago, Costa Rica, mediante un estudio de tipo caso-control.

**MATERIALES Y METODOS**

Se analizó una muestra de 20 individuos con diagnóstico de esquizofrenia, 9 mujeres y 11 hombres con edades comprendidas entre los 20 y los 60 años de edad, de la provincia de Cartago. Este grupo fué comparado con una muestra control de 20 individuos diagnosticados médica y psicológicamente normales (11 mujeres y 9 hombres) de edad y origen semejantes al grupo de estudio (cuadro 1).

Cuadro N° 1.

**DISTRIBUCION DE LOS INDIVIDUOS ESQUIZOFRENICOS POR GRUPOS DE EDAD Y SEXO**

Grupos de edad (años)	Sexo	Nº individuos esquizofrénicos	Controles
20-29	F	1	2
	M	3	2
30-39	F	4	4
	M	4	4
40-49	F	2	4
	M	2	1
Mayor de 50	F	2	1
	M	2	2
<b>TOTAL</b>		<b>20</b>	<b>20</b>

Tanto a los pacientes como a sus controles, se les tomó una muestra de sangre periférica heparinizada, la cual se sembró por duplicado en 5 ml de medio 199 complementado al 10% con suero fetal bovino. A cada cultivo se le adicionó 30 ul de phytohemagutinia M (gibco). A las 75 horas de iniciado el cultivo, se agregó 30 ul de colchicina al 0.02% por 30 minutos, cosechándose de acuerdo a las técnicas usuales (5). Se analizó un promedio de 70 mitosis por individuo, determinándose el número de fracturas presentes, clasificándose de acuerdo al cromosoma en que se encontraron, posición en el mismo, y si la ruptura era cromosómica o cromatídica.

Cada una de las fracturas fue fotografiada y analizada, para determinar cuáles correspondían a sitios frágiles y cuáles a fracturas al azar. La identificación de los sitios frágiles se hizo en forma subjetiva, mediante comparación de la posición de la fractura respecto a un patrón, ya que no se programó el hacer bandeo a los cromosomas, como era lo indicado para una identifica-

ción positiva de esos sitios frágiles. Para minimizar el error, en la identificación de los sitios frágiles, únicamente se tomaron en cuenta aquellas fracturas en el mismo punto, que se presentaban más de 3 veces en el mismo individuo.

Para cada uno de los individuos estudiados (esquizofrénicos y controles) se determinó si fumaban, tomaban licor o medicamentos fenotiazinas, otros antipsicóticos y otros medicamentos, con el objetivo de eliminar posibles fuentes de error en la determinación de sitios frágiles.

### RESULTADOS Y DISCUSION

El porcentaje de fracturas totales (sitios frágiles más otras fracturas) fue ligeramente mayor en el grupo de esquizofrénicos, pero no hubo diferencia estadísticamente significativa. Al analizar independientemente los sitios frágiles, los resultados son muy semejantes; tanto al comparar el total de individuos, como al separarlos por sexo (cuadros 2 y 3).

**Cuadro N° 2**  
**VALORES ENCONTRADOS EN EL GRUPO DE PACIENTES ESQUIZOFRENICOS**

Sexo	N° individuos	N° total mitosis	X mitosis	Total fracturas	Porcentaje fracturas	Total sitios frágil	% sitio frágil
F	9	708	78.67	28	3.95	6	66.6
M	11	744	67.63	37	4.97	6	54.54
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>1.453</b>	<b>72.65</b>	<b>65</b>	<b>4.47</b>	<b>12</b>	<b>60.00</b>

**Cuadro N° 3**  
**VALORES ENCONTRADOS EN EL GRUPO CONTROL**

Sexo	N° indiv. vid.	N° total mitosis	Promedio de mitosis	Total fracturas	Porcentaje fracturas	Total sitios frágiles	% sitio frágil
F	11	753	68.45	27	3.59	7	63.63
M	9	646	71.78	27	4.18	5	55.55
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>1.399</b>	<b>69.95</b>	<b>54</b>	<b>3.86</b>	<b>13</b>	<b>65.00</b>

Al analizar los sitios frágiles por separado, encontramos la presencia de 3 sitios frágiles: el 3p14, el 6p23, el 2q13. De estos únicamente los dos primeros se encontraron en el grupo de estudio, mientras que los 3 sitios frágiles mencionados están presentes en el grupo control.

De los 20 individuos esquizofrénicos seis tenían el sitio frágil 3p14, de los cuales 3 eran varones y 3 mujeres. En el grupo control únicamente cuatro individuos lo presentaban, dos mujeres y dos hombres.

El sitio frágil, 6p23 se presentaba con más frecuencia en el grupo control, ocho individuos (5 mujeres y 3 hombres) contra seis del grupo experimental (3 mujeres y 3 hombres). En cuanto al sitio frágil del cromosoma 2, únicamente lo presentó un individuo (masculino) del grupo control y ninguno del grupo de esquizofrénicos (cuadros 4 y 5).

Aún cuando seis individuos del grupo de esquizofrénicos presentaron el sitio frágil 3p y únicamente cuatro de los controles, la diferencia no fue significativa. Tampoco hubo diferencia al comparar sexos o correlacionar por edad. Por otra parte, dos individuos del grupo control, y uno del grupo en estudio presentaron el sitio frágil tanto en el cromosoma 3 como en el 6.

No se encontró diferencia por sexo, edad, tabaquismo, alcoholismo e ingesta de medicamentos, entre grupos ni dentro de cada grupo (esquizofrénicos y controles).

De acuerdo a los resultados no se detectaron asociaciones significativas entre la presencia de los sitios encontrados y los pacientes diagnosticados con esquizofrenia; sin embargo, los resultados no deben tomarse como concluyentes, ya que la muestra fue pequeña y no se hicieron pruebas de bandeo cromosómico más detalladas.

**Cuadro N° 4**  
**DISTRIBUCION DE LOS SITIOS FRAGILES EN EL GRUPO DE ESQUIZOFRENICOS**

Sexo	Total indiv.	Sitios frágiles					
		3p14		6p23		2q13	
		N° indiv.	%	N° indiv.	%	N° indiv.	%
F	9	3	33.33	3	33.33	0	0
M	11	3	27.27	3	27.27	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>6</b>	<b>30.00</b>	<b>6</b>	<b>30.00</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

**Cuadro N° 5**  
**DISTRIBUCION DE LOS SITIOS FRAGILES EN EL GRUPO CONTROL**

Sexo	Total indiv.	Sitios frágiles					
		3p14		6p23		2q13	
		N° indiv.	%	N° indiv.	%	N° indiv.	%
F	11	2	18.18	5	45.45	-	-
M	9	2	22.22	3	33.33	1	11.11
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>4</b>	<b>20.00</b>	<b>8</b>	<b>40.00</b>	<b>1</b>	<b>5.00</b>

Por otra parte, no es de extrañar que se encontraran los sitios frágiles del cromosoma 3 y 6 en frecuencias relativamente altas en los dos grupos estudiados (30% en esquizofrénicos y 20% en el grupo control) para el sitio 3p14, y 30% y 40% para los grupos de esquizofrénicos y control respectivamente, para el sitio 6p23, puesto que en la literatura se reporta con frecuencias mucho más altas en la población general (cuadros 5 y 6). Para el sitio frágil del cromosoma 3, se han reportado frecuencias que van de aproximadamente el 80% al 96% en la población general (14,15).

La población estudiada incluye sólo pacientes de la provincia de Cartago. Si se considera la posible variación genética y ambiental existente en diversos lugares de Costa Rica, es recomendable extender esta investigación a otros grupos de pacientes en diferentes provincias, utilizando la misma metodología. Es posible que un aumento de la heterogeneidad de la muestra, y de su tamaño, permita obtener resultados más concluyentes, al menos para determinar la situación real de este importante aspecto de la enfermedad en nuestro país.

**Cuadro N° 6**  
**NUMERO DE INDIVIDUOS QUE PRESENTARON**  
**UNO O DOS SITIOS FRAGILES SIMULTANEAMENTE**

Grupo	3p14	6p23	3p14-6p23	6p23-2q13
Esquizofrénicos	5	5	1	0
Control	2	5	2	1
<b>TOTAL INDIVIDUOS</b>	<b>7</b>	<b>10</b>	<b>3</b>	<b>1</b>

#### AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Lila Umaña del INCIENSA y el Lic. Gerardo Arauz, Gerente del Instituto Nacional de Seguros (INS), por su apoyo en las diversas etapas del estudio. Esta investigación fue financiada con fondos de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y el Instituto Nacional de Seguros.

#### BIBLIOGRAFIA.

- Glover, T.W. FUDR. Induction of the X Chromosome fragile site: Evidence for the mechanism of folic and Rhythidine Inhibition. *Am. J. Hum. Genet.* 1981; 33:234-242.
- Glover, T.; Bergee, C.; Coyle, J.; and Echo, B. DNA Polymerase and inhibition by aphidicolin induces gaps and breaks at common fragile sites in human chromosomes. *Hum. Genet.* 1984; 67:136-142.
- Howard-Peebles, P.N.; and Howen, W.H. Behavior of Chromosome cores at heritable fragile site: 16q22 and q27. *Cytogenetic, cell genet.* 1981; 31:115-119.
- Markkanen, A.; Nuutila, S.K.; de la Chapelle, A. Inducible fragile site on chromosome 3. *Hum. Genet.* 1983; 65:217.
- Moorhead, P.S. et. al. Chromosome preparations of leukocyte cultural from the man peripheral blood. *Exp. Cell Res.* 1960; 20:613.
- Petit, P. et. al. Population cytogenetic of autosomal fragile site. *Clinical Genetics.* 1986; 26:96-100.
- Propping, P. Genetic disorders presenting as "Schizophrenia" Karl Bonhoeffer's early view of the psychoses in the light of medical genetics. *Hum. Genet.* 1983; 65:1-10.
- Reidy, J.A.; and Chen, A.T.L. Folic and acid and chromosome break age. II. A methionine effect similar to that in fragile X expression. *Hum. Genet.* 1984; 68:189-190.
- Rudduck, C.; and Franzen, G. A new heritable fragile site on human chromosome 3. *Hereditas.* 1983; 98:297-299.
- Smeets, D.F.C.M.; Scheres, J.M.J.C.; and Hustinx, T.W.J. The fragile site on chromosome 3. *Hum. Genet.* 1984; 67:351.
- Sutherland, G.R. Heritable fragile sites on Human Chromosomes I. Factors affecting expression in lymphocyte culture. *Am. J. Hum. Genetics.* 1979; 31: 125-135.
- Sutherland, G.R. Heritable fragile sites on human chromosome IX. Population cytogenetics and segregation analysis of the Brd Urequiring fragile site at 10q25. *Am. J. Hum. Genet.* 1982; 34:753-756.
- Taylor, A.M.R.; and Bunday, S. Spontaneous Expression of the Chromosome fragile site fra (10) (q25). *Am. J. Hum. Genet.* 1983; 35:123-125.
- Tommerup, N; Nielsen, J, and Mikkelsen, M. A folate sensitive heritable fragile site at 19p13. *Clinical Genetics.* 1985; 27:510-514.