ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 474-476

RIESGO GENÉTICO DEL OVINO ARAGONÉS A LA ENFERMEDAD DE SCRAPIE

C. Acín*, I. Martín-Burriel*, J. Lyahyai, E. Monleón, C. Rodellar, J.J. Badiola, P. Zaragoza.
Laboratorio de Genética Bioquímica.
Centro Nacional de Referencia de las EETs.
Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza
Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza

* Ambos autores han contribuido por igual al desarrollo del trabajo

INTRODUCCIÓN

El Scrapie es una enfermedad neurodegenerativa que afecta a las especies ovina y caprina (Cuille and Chelle 1938, Dickinson 1976), y que también ha sido descrita en otras especies silvestres como el muflón (Wood et al. 1991). La primera evidencia de la influencia genética en esta enfermedad fue descrita por Dickinson et al. (1968). Posteriormente se descubrieron varios polimorfismos en el gen PrP murino que estaban ligados a diferencias en el periodo de incubación de ratones inoculados con scrapie (Carlson et al. 1986, 1988, 1994, Westaway et al. 1987). En estudios posteriores, se encontraron relaciones equivalentes en el ganado ovino (Hunter et al. 1987, 1989, 1991, 1992 y 1993). En esta especie se han descrito dos alelos en el codón 136 (A, V), dos en el codón 154 (R, H) y tres en el codón 171 (Q, R, H). La combinación de estos polimorfismos da lugar a cinco alelos relacionados con distintos grados de susceptibilidad a la enfermedad.

En el trabajo que se presenta, se han analizado un total de 950 animales de diferentes razas ovinas aragonesas. En estos animales se ha calculado las frecuencias alélicas y genotípicas para el gen PrP.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del presente estudio se analizaron 950 animales procedentes de distintas razas ovinas aragonesas. Estas poblaciones se corresponden con 4 rebaños de Rasa Aragonesa, 4 de Ojinegra de Teruel, 2 de Cartera, 2 de Maelana, 2 de Roya Bilbilitana y 1 de Ansotana. De cada rebaño se muestrearon todos los machos y hasta 50 hembras reproductoras elegidas de forma aleatoria.

A partir de sangre entera con EDTA como anticoagulante se obtuvo el ADN genómico utilizando técnicas estándar. Para el genotipado, los polimorfismos de los codones 136 y 154 fueron detectados mediante el análisis por PCR- RFLPs, empleando las enzimas de restricción BspHI por el método descrito por O'Doherty et al. (2000). El polimorfismo del codón 171 fue detectado mediante la amplificación de dos PCR alelo específicos y posterior digestión con la enzima Bsl-1 para el alelo R_{171} y Acc-1 para el alelo H_{171} descrito por Yuzbasiyan-Gurkan et al. (1999).

Las frecuencias alélicas y genotípicas para cada codón y para cada alelo relacionado con la susceptibilidad a scrapie se calcularon utilizando el programa GENEPOP (Raymond and Rousset, 1995). El mismo programa fue utilizado para

determinar posibles desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg, mediante el cálculo de valores de P exactos. Finalmente, se realizó un test exacto de Fisher para estimar los valores de P correspondientes a diferencias entre las frecuencias alélicas de las distintas poblaciones utilizando el mismo paquete informático.

RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los resultados de las frecuencias alélicas para cada codón en cada raza. El codón 154 presenta frecuencias muy elevadas para el alelo Arginina (R), en las seis poblaciones analizadas con valores superiores al 90%. Sólo se ha observado un animal de raza Rasa Aragonesa homocigoto para el alelo H_{154}. Las razas Rasa Aragonesa, Ojinegra de Teruel, Roya Bilbilitana y Cartera presentan frecuencias prácticamente fijadas para el alelo Alanina (A_{136}) en el codón 136, con valores de frecuencia superiores al 95%, mientras la frecuencia para el alelo Valina (V_{136}) en la Maellana y Ansotana 9,7 y 13.5 por ciento respectivamente. La variabilidad más alta se ha encontrado en el codón 171, siendo el alelo Glutamina (Q_{171}) el más frecuente, con valores de frecuencia entre 52,9 y 84,1% en los rebaños de Cartera y Maellana. Catorce genotipos se han observado en las razas analizadas. Tanto los codones de forma independiente como los haplotipos presentaron equilibrio Hardy-Weinberg. En la Tabla 2 se muestran las frecuencias observadas para cada uno de los alelos relacionados con la susceptibilidad a scrapie. Las frecuencias alélicas mostraron diferencias significativas entre las distintas poblaciones. Aunque los datos brutos de frecuencias genotípicas no se presentan, podemos destacar que el genotipo más común ha sido el homocigoto PrP^{ARQ} / PrP^{ARQ} seguido del heterocigoto PrP^{ARR} /PrP^{ARQ}. La raza Cartera muestra una frecuencia relativamente alta de genotipos resistentes PrP^{ARR} /PrP^{ARR} (19,44%), y esta es la única población donde el genotipo PrP^{ARR} /PrP^{ARQ} es el más frecuente. Por otro lado, la raza Maellana es la que más animales tiene de riesgo, con un 12,2% de heterocigotos PrP^{ARQ} /PrP^{VRQ}, un 1,7% de homocigotos PrP^{VRQ} /PrP^{VRQ} y un 4,3% de heterocigotos PrP^{ARR} /PrP^{VRQ}.

Tabla 1 Frecuencias alélicas para cada codón

		Codon 136		Codon 154		Codon 171		
	n	A	V	R	H	Q	R	H
Rebaños sanos								
Ansotana	48	86,5	13,5	91,1	8,9	61,5	28,1	10,4
Cartera	144	98,6	1,4	99,7	0,3	52,9	45,7	1,4
Maellana	126	90,3	9,7	97,6	2,4	84,1	15,1	0,9
Ojinegra	211	97,0	3,0	99,8	0,2	76,7	14,4	8,8
Roya Bilbilitana	110	97,2	2,8	99,1	0,9	76,9	20,7	2,4
Rasa Aragonesa	311	97,2	2,8	95,5	4,5	78,5	15,1	6,4

Tabla 2 Frecuencias alélicas (%) de los alelos relacionados con la susceptibilidad a scrapie.

	ARR	AHQ	ARH	ARQ	VRQ
Ansotana	28,1	3,1	9,4	45,8	12,5
Cartera	46,0	0,4	1,5	50,7	1,5
Maellana	15,2	2,6	0,9	71,3	10

Ojinegra	14,6	0,3	8,2	73,9	3,0
Roya Bilbilitana	21,4	1,0	2,6	72,4	2,6
Rasa Aragonesa	15,0	4,7	6,4	70,9	2,9

DISCUSIÓN

El alelo más frecuente ha sido el PrP^{ARQ}, seguido de PrP^{ARR} en todas las razas analizadas. No obstante, es importante indicar que se aprecia una clara variación entre rebaños en las frecuencias alélicas del gen PrP. Catorce genotipos se han observado en las razas autóctonas aragonesas. Las poblaciones en peligro de extinción Ansotana y Maellana, pueden ser consideradas como razas Valina con frecuencias del alelo PrP^{VRQ} del 12,5 y 10 por ciento, respectivamente. Las frecuencias alélicas y genotípicas están en concordancia con las descritas en otras razas valina de Europa, Australia y Nueva Zelanda (Hunter et al., 1997; Hunter and Cains, 1998; Thorgeirsdottir et al., 1999; Drögemüller et al., 2001). La variante V_{136} se clasifica como de alto riesgo para la infección dentro de las razas Valina (Hunter et al., 1993; 1994; 1996; Thorgeirsdottir et al., 1999), si bien la presencia de los alelos H_{154} o R_{171} en heterocigosis proporciona cierta resistencia a los individuos con el polimorfismo V_{136} (Hunter et al., 1996). En las razas Valina Aragonesas, la variante H_{154}, si se presenta, es muy rara y por tanto la sensibilidad de los individuos elevada.

BIBLIOGRAFÍA

- Cuille J., Chelle P-L. (1938) La tremblante du mouton est bien inoculable. CR Acad. Sci. 206: 1687-1688.
- Dickinson A.G., Meikle V.M.H., Fraser H. (1968) Identification of a gene which controls the incubation period of some strains of scrapie agent in mice. J. Comp. Pathol. 78: 293-299.
- Drögemüller C, Leeb T, Distl O (2001) PrP genotype frequencies in German breeding sheep and the potential to breed for resistance to scrapie. Vet Rec 149: 349-352.
- Hunter N, Cairns D (1998) Scrapie free Merino and Poll Dorset sheep from Australia and New Zealand have normal frequencies of scrapie susceptible PrP genotypes. J Gen Virol 79: 2079-2082.
- Hunter N. (1993) Genetic control of scrapie incidence in sheep and its relevance for bovine spongiform encephalopathy in cattle. Rev. Med. Virol. 3: 195-200.
- Hunter N., Cairns D., Foster J.D., Smith G., Goldmann W., Donnelly K. (1997) Is scrapie solely a genetic diseases ? Nature 386: 137.
- O'Doherty E, Aherne M, Ennis S, Weavers E, Hunter N, Roche JF, Sweeney T (2000) Detection of polymorphisms in the prion protein gene in a population of Irish Suffolk sheep. Vet Rec 146: 335-338.
- Raymond M. y Rousset F. (1995) GENEPOP: population genetics software for exact test and ecumenicism. J. Hered 86.248-249.
- Thorgeirsdottir S, Sigurdarson S, Thorisson HM, Georgsson G, Palsdottir A (1999) PrP gne polymorphism and natural scrapie in Icelandic sheep. J Gen Virol 80: 2527-2534.
- Wood J.L.N., Lund L.J., Done S.H. (1991) The natural occurrence of scrapie in moufflon. Vet. Rec. 130: 25-27.
- Yuzbasiyan-Gurkan GVm Krehbiel JD, Cao Y, Venta PJ (1999) Development and suefulness of new polymerase chain rection-based test for detection of different alleles at codons 136 and 171 of the ovine prion protein gene. Am J Vet Res 60: 884-887.