

Diagnóstico molecular y estrategias para el control de enfermedades hereditarias importantes en ganadería bovina

✉ Odalys Uffo, Atzel Acosta

Laboratorio de Genética Molecular,
Centro de ensayos para el análisis de la calidad de la leche y sus derivados, CENLAC
Carretera de Jamaica y Autopista Nacional, AP 10, San José de las Lajas, CP 32700, La Habana, Cuba
E-mail: uffo@censa.edu.cu

REVISIÓN

RESUMEN

El conocimiento del genoma bovino y la utilización de marcadores de ADN han permitido conocer el origen de algunas enfermedades hereditarias y desarrollar técnicas de diagnóstico precoz. Mediante el aislamiento de ADN a partir de muestras nucleadas y técnicas de amplificación *in vitro* y digestión con enzimas de restricción se puede diagnosticar si un animal es portador de un gen letal o mutante para determinadas características. En la actualidad es posible estudiar enfermedades hereditarias del ganado bovino lechero como la deficiencia de adhesión leucocitaria bovina (BLAD), la malformación vertebral compleja (CMV), la deficiencia de la enzima uridina-monofosfato sintasa (DUMPS) y citrulinemia, entre otras, cuyos orígenes están relacionados con la presencia de alelos recesivos. Si bien la frecuencia de estos genes mutantes es muy baja, debe considerarse que la utilización a gran escala de reproductores portadores puede incrementarla y generar importantes pérdidas económicas; por otra parte, el conocimiento de que un reproductor está libre de tales mutaciones, incrementa su valor agregado. Es por ello, la tendencia mundial a la implementación de programas de vigilancia para enfermedades genéticas, de aquí la importancia de divulgar tanto entre investigadores y médicos como entre los productores la utilización e importancia de los marcadores moleculares de ADN en la sanidad animal.

Palabras clave: enfermedad genética bovina, diagnóstico molecular

Biotecnología Aplicada 2009;26:199-203

ABSTRACT

Molecular diagnosis and control strategies for the relevant genetic diseases of cattle. The availability of the bovine genome sequence and the use of DNA markers have widened our understanding of a number of hereditary diseases in cattle, leading to the development of techniques for their early diagnosis. By isolating DNA from nucleated cell samples, followed by *in vitro* amplification techniques and digestion with restriction enzymes, it is now possible to detect the presence of lethal or mutant alleles for a specific phenotype. Such techniques are already being used for the study of genetic diseases of dairy cattle such as BLAD (Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency), CVM (complex vertebral malformation), DUMPS (deficiency of uridine-monophosphate synthase) and citrullinemia, among others, where the disorder is caused by the presence of a recessive allele in homozygosis. Although the frequency of these alleles in the population is usually very low, it can be easily increased if heterozygotic (carrier) studs are used during large-scale stockbreeding, ultimately resulting in significant economic losses; on the other hand, certifying the absence of such mutations in studs increases their value. Since there is a worldwide tendency towards the implementation of monitoring programs for hereditary diseases in cattle, it is important to update the technical personnel involved in cattle breeding (researchers and veterinary doctors) as well as farmers on the use and importance of DNA molecular markers in animal health.

Keywords: genetic bovine disease, molecular diagnosis

Introducción

Las enfermedades hereditarias tienen un origen genético y se manifiestan a consecuencia de haberse transmitido en una familia, uno o varios genes defectuosos que generalmente ocasionan impactos negativos en los rendimientos. En décadas pasadas, los avances tecnológicos ocurridos en el campo de la genética molecular y la bioinformática han permitido la identificación de genes relacionados con desórdenes hereditarios de importancia en el ganado lechero. En la mayoría de los casos, la presencia de mutaciones simples en estos genes produce la formación de variantes proteicas no funcionales y ocasionan importantes alteraciones en el desarrollo y metabolismo de los animales [1]. En este tipo de alteraciones, los animales portadores de variantes génicas mutadas no presentan alteraciones (caracteres recesivos), pero sí las trans-

miten a su descendencia, lo que aumenta la probabilidad del desarrollo de enfermedades hereditarias y su repercusión en el ámbito económico por el riesgo que implican para la salud y el rendimiento productivo de la población de la cual forman parte, al expandirse el defecto de forma asintomática.

Las enfermedades genéticas en animales deben constituir un punto de atención para los criadores, precisamente porque el efecto de su ocurrencia en una población se manifiesta a largo plazo, en ocasiones en varias generaciones de cruzamientos, cuando ya es inevitable el daño ocasionado. Es por ello que son sumamente importantes la implementación de los registros individuales y los genealógicos.

En ocasiones, cuando se han usado sementales élite, portadores de un gen recesivo para producir grandes

1. Díaz O OH. 1993. Enfermedades hereditarias de los animales domésticos: su significación en patología y producción animal. Monografías de Medicina Veterinaria. Vol. 15 (1 & 2) December. [Online] Available at: http://www.monografias.veterinaria.uchile.cl/CDA/mon_vet_seccion/0,1419,SCID%253D13930%2526ISID%253D440,00.html [Consulta: marzo 5, 2008]

cantidades de terneros, las consecuencias han sido muy negativas por la influencia particularmente importante de la consanguinidad, la cual intensifica el proceso de degeneración.

Actualmente se conocen los cambios o alteraciones que originan muchas enfermedades hereditarias y es posible no solo explicarlas, sino también diagnosticarlas antes de que se manifiesten. A causa de los nuevos enfoques metodológicos y las tecnologías moleculares que se han utilizado por años en las especies animales, hoy los genetistas cuentan con herramientas eficientes para la erradicación de desórdenes genéticos en las poblaciones animales [2]. Además, los criadores pueden manejar los cruzamientos de sus rebaños utilizando los métodos analíticos disponibles, basados en la genética molecular.

En el presente trabajo se pretende revisar algunos aspectos teóricos sobre varias enfermedades hereditarias relevantes en ganado bovino, que cobran cada vez mayor importancia en nuestro medio, teniendo en cuenta las crecientes necesidades de mantener la disponibilidad de alimentos y de hacerlo de forma sostenible y segura.

Defectos congénitos

Los defectos congénitos pueden causar abortos o estar presentes en el momento del nacimiento; son poco comunes pero pueden ocurrir en la mayoría de las razas bovinas. Pueden manifestarse como anomalías físicas o funcionales y además, ser el resultado de causas ambientales o genéticas. En el primero de los casos, es posible corregirlos mediante ajustes en el ambiente y originar así menores pérdidas económicas; sin embargo, las causas de origen genético son mucho más complejas y por consiguiente, más difíciles de corregir [3].

Causas ambientales

Las causas ambientales pueden ser corregidas controlando simplemente alguno de los numerosos factores que tienen gran incidencia en las enfermedades y con la dieta [4]. Estas causas tienen las mismas implicaciones en cuanto a pérdidas económicas que las genéticas, pero son de menor magnitud.

Las condiciones que muestran que una anomalía es de origen ambiental son:

1. Coincidencia con un factor ambiental y ausencia cuando este se elimina.
2. Ocurrencia en grupos de animales no emparentados.
3. Síntomas similares a los de aquellos que presentan una anomalía de origen ambiental conocido.

Causas genéticas

Se originan cuando los genes heredados de los padres se pierden, mutan o están en una localización equivocada (traslocados). Pocos genes pueden causar directamente un defecto genético y generalmente son de carácter recesivo [4]. Ambos padres deben ser portadores para que de cuatro hijos, uno sea enfermo, dos portadores y uno normal.

Las condiciones que indican la presencia de una anomalía genética son:

1. Anomalía común a un grupo de animales emparentados.

2. Síntomas similares a los de aquellas anomalías identificadas mediante pruebas de apareamiento. Implican estudios cromosómicos y por marcadores moleculares para identificar las causas.

Estrategias para el diagnóstico genético

Las estrategias para el diagnóstico genético se pueden clasificar en dos grupos:

1. *Directas*: El marcador molecular utilizado permite la identificación de la mutación en un gen asociado a determinada enfermedad.
2. *Indirectas*: El diagnóstico es independiente del conocimiento del gen implicado en la enfermedad y se fundamenta en la herencia conjunta o estrechamente ligada del marcador molecular con el gen de interés. En estos casos, dicho marcador puede ser una secuencia repetida (microsatélite) que permite la realización de estudios de cosegregación entre este y la enfermedad.

Deficiencia de adhesión leucocitaria bovina

La granulocitopatía bovina, conocida como deficiencia de adhesión leucocitaria bovina (BLAD), fue descrita por primera vez en 1983 en una vaquilla Holstein Friesian en EE.UU. por Hagemoser *et al.* [5]. Esta enfermedad se caracterizó como una susceptibilidad aumentada a la acción de agentes infecciosos durante los dos años de vida del animal, con una función alterada de los neutrófilos que, pese a la alta neutrofilia, era incapaz de iniciar una respuesta inflamatoria. Posteriormente Nagahata *et al.* [6] describieron en Japón en 1987 una enfermedad similar, caracterizada por un síndrome granulocitopático que afectó a terneros y vaquillas Holstein Friesian descendientes de ganado proveniente de EE.UU., y basándose en un análisis de pedigrí sugirieron como causa de este síndrome una enfermedad con un mecanismo de transmisión hereditario de tipo recesivo autosómico simple.

En 1990, Kehrlí *et al.* [7] definieron la base molecular de la granulocitopatía bovina como una deficiencia del complejo glicoproteína Mac-1 (CD11b/CD18). Entre las manifestaciones clínicas y hallazgos de laboratorio de la enfermedad pueden señalarse: infecciones recurrentes de tejidos blandos, como estomatitis granulomatosa y ulcerativa, enteritis, neumonitis, periodontitis, cicatrización defectuosa, muerte antes de alcanzar la madurez sexual, leucocitosis con predominio de neutrófilos, una neutrofilia persistente y progresiva; linfocitosis moderada y neutrófilos funcionalmente anormales en cuanto a motilidad, fagocitosis y capacidad oxidativa. En la necropsia se observan numerosos neutrófilos en capilares sinusoides y vasos sanguíneos, que contrastan con el bajo número de neutrófilos extravasculares en los tejidos inflamados y en los que se puede observar sobrecrecimiento de microorganismos. Las lesiones histopatológicas más frecuentemente descritas han sido enteritis necrótica, hiperplasia linfóide e histiocitosis de los ganglios linfáticos. En muchos casos, el examen histológico confirma lesiones macroscópicas de neumonía o abscesos pulmonares. También se han diagnosticado laringitis y traqueítis, así como hiperplasia mieloide de la médula ósea [8].

BLAD resulta letal para el ganado de la raza Holstein [9] es causante de la muerte de los animales a los pocos meses de nacer (de 2 a 8 meses) con sintoma-

2. Aplicación de marcadores moleculares en ganadería, 2006. [En línea]. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos37/marcadores-moleculares/marcadores-moleculares.shtml> [Consulta: marzo 5, 2008]

3. Blakely D. Genetic abnormalities in beef cattle. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Ontario, Canada. 2007 [Online] Available at: <http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/beef/facts/93-007.htm>

4. Hagemoser WA, Roth JA, Löfsted J, Fagerland JA. 1983. Granulocytopenia in a Holstein heifer. J Am Vet Med Assoc 1983;183:1093-4.

5. Nagahata H, Noda H, Takahashi K, Kurosawa T, Sonoda M. Bovine granulocytopenia syndrome. Neutrophil dysfunction in Holstein Friesian calves. Zentralbl für Veterinärmedizin. J Vet Med 1987;34:445-51.

6. Kehrlí ME, Schmalstieg C, Anderson DC, Van Der Maaten MJ, Hughes BJ, Akermann MR, Wilhemsens CL, Brown GB, Stevens MG, Whetstone CA. Molecular definition of the bovine granulocytopenia syndrome: Identification of deficiency of the Mac-1 (CD11b/CD18) glycoprotein. Am J Vet Res 1990;51:1826-36.

7. Gilbert RO, Rebhun WC, Kim CA, Kehrlí ME, Schuster DE, Ackermann MR. Clinical manifestations of leukocyte adhesion deficiency in cattle: 14 cases (1977-1991). J Am Vet Med Assoc 1993;202:445-9.

8. Kehrlí ME, Shuster DE, Ackermann MR. Leukocyte adhesion deficiency among Holstein cattle. Cornell Veterinarian 1992; 82:103-9.

tología clínica inespecífica. Al nacer, los individuos afectados son aparentemente sanos, pero a las pocas semanas comienzan síntomas de fiebre alta, diarrea crónica, falta de cicatrización de las heridas, gingivitis e infecciones generalizadas que terminan con la muerte del animal sin responder a tratamientos convencionales con antibióticos. Una enfermedad equivalente existe en perros de la raza Setter Irlandés así como en humanos, la deficiencia de adhesión leucocitaria humana (LAD), quienes presentan una deficiencia genética en las glicoproteínas LFA-1, p150, 95 y Mac-1, también conocidas como integrinas beta CD11/CD18 por la Organización Mundial de la Salud. Los niños afectados desarrollan infecciones bacterianas recurrentes con leucocitosis persistente; estos pacientes sin un trasplante de médula ósea mueren a temprana edad.

Se conoce la secuencia del gen normal que codifica para la subunidad b de las integrinas de la proteína bovina CD18 [10] y se ha identificado el alelo bovino CD18 defectuoso. Se trata de dos mutaciones puntuales en el alelo que codifica CD18 en el bovino. Una de ellas es silenciosa y la segunda comprende el cambio de ácido aspártico por glicina en el aminoácido 128, que se corresponde con la región extracelular, altamente conservada en el humano, bovino y ratón. La mutación afecta la función de un receptor de proteínas en los leucocitos, lo que incide en la respuesta inflamatoria y en la defensa del organismo contra infecciones.

Cuando un bovino es afectado por una infección, los leucocitos son atraídos al tejido afectado y combaten los microorganismos invasores. Estos son atraídos al sitio de la infección por moléculas que aparecen en las paredes de los vasos sanguíneos de la zona afectada. Para penetrar el tejido infectado, los leucocitos usan uno de sus receptores para adherirse a estas moléculas y fijarse a ellas, atravesar la pared vascular y llegar al tejido infectado. La mutación asociada a BLAD modifica el receptor de los leucocitos, de modo que pierden su capacidad de fijarse a las paredes vasculares para llegar al tejido infectado [11]. Como consecuencia de ello, los bovinos afectados son incapaces de combatir las enfermedades bacterianas comunes, las cuales pueden persistir o recurrir. Por ser esta una enfermedad autosómica recesiva, es capaz de transmitirse desde padres portadores a su descendencia.

El diagnóstico de esta enfermedad generalmente se ha realizado basándose en la secuencia del ADNc del gen C18 del bovino (M81233, número de acceso de la base de datos GenBank) y utilizando comúnmente los oligonucleótidos o cebadores descritos por Tammen *et al.* en 1996 [12], (5'-GTCAGGCAGTTGCGTTCAA-3') y (5'-GAGGTCATCCACCATcGAGT-3'). Este último presenta un cambio en una base, por lo cual introduce en el producto de amplificación un nuevo sitio de restricción para la enzima *Taq* I, con lo cual se obtiene un producto de amplificación de 101pb de dicho gen. Otros autores describen la digestión del mismo fragmento con la enzima *Hae* III [11] que les permiten identificar inequívocamente el genotipo del ganado en el *locus* determinado así como el diagnóstico certero y precoz de aquellos animales enfermos o portadores del defecto hereditario estudiado.

También se ha logrado establecer el genotipo en la mutación silente en la posición 775 (C→T) conocida

como SNP775 (C→T), por medio de la amplificación específica y digestión con enzimas de restricción. Czarnik *et al.* [13] en el 2007 analizaron un rebaño Black and White comercial y dos poblaciones endémicas de Polish Red y White Black Polish, involucrados en un programa internacional de conservación de fuentes de variabilidad genética en animales de granja. Estos autores realizaron la amplificación de un fragmento de 108 pb del gen CD18, el cual fue secuenciado y posteriormente digerido con la enzima *Fnu*4HI, para obtener patrones de restricción que les permitieron la asignación de los genotipos esperados. Esto constituyó una evidencia de que BLAD no solo aparece en animales Holstein, lo cual sería interesante comprobar en otras razas.

Malformación Vertebral Compleja

La malformación vertebral compleja (Complex Vertebral Malformation, CVM) fue descrita en Dinamarca en octubre de 2000 en terneros Holstein. Los investigadores del Instituto Danés de Ciencias de la Agricultura identificaron en el año 2001, el gen y la mutación causante de la enfermedad. El defecto pudo ser seguido hasta el semental norteamericano élite Carlin-M Ivanhoe Bell, el mismo portador de BLAD que ha sido usado extensivamente en gran parte del mundo, lo que ha contribuido al incremento de la mortalidad de terneros Holstein [14]. Recientemente se ha identificado a su padre, Penstate Ivanhoe Star (USA 1441440, nacido el 20 de enero de 1963), también como portador [15].

El defecto de referencia está causado por una mutación en un gen autosómico recesivo [16-18]. Los terneros que portan el gen defectuoso pueden parecer físicamente normales, incluso puede que no se afecten en su desarrollo; se denominan con el código CV en todos los registros de pedigrí o establecimientos de linaje. Aquellos que no son portadores se identifican con la sigla TV. Esta codificación está por ser estandarizada internacionalmente [19].

Los síntomas típicos de CVM se manifiestan con malformaciones en la parte cervical (fusión de las dos últimas vértebras cervicales) y torácica (distorsión de las tres primeras vértebras torácicas) de la columna, que originan una ligera escoliosis en cada punto; contracción moderada bilateral simétrica de las articulaciones del carpo; acortamiento del cuello y patas delanteras, con rotación media de patas. También puede observarse alargamiento del tarso de ambas patas delanteras. El examen del corazón revela una hipertrofia del lado derecho y un defecto intraventricular superior, lado del que se originan tanto la arteria pulmonar como la aorta. Estas anomalías cardíacas ocurren en el 50% de los casos y también se han descrito caracteres de fertilidad asociados a CVM, por ejemplo, muchos fetos son abortados alrededor de los 159 días de gestación mientras que otros nacen prematuramente y usualmente nacen muertos [16,17, 20-23]. También se origina mortalidad intrauterina durante todo el período de la gestación que ocasiona la repetición de las inseminaciones y el secado involuntario de vacas, y por tanto, pérdidas económicas [24].

La expresión morfológica de CVM es amplia, pero algunos aspectos como el retraso del crecimiento y la malformación vertebral son resultados casi constantes. Sin embargo, los casos sin defectos y fenocopias vertebra-

9. Shuster DE, Kehrl ME, Ackermann MR, Gilbert RO. Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. Proc Natl Acad Sci USA 1992;89:9225-9.

10. Felmer RD, Butendieck NB, Butendieck B, Villegas J. Detección de un defecto genético en bovinos mediante una prueba de ADN. Agric Téc 2001;61(1):42-50.

11. Tammen I, Klippert H, Kuczka A, Treviranus A, Pohlenz J, Stober M, Simon D, Harlizius B. An improved ADN test for bovine leukocyte adhesion deficiency. Res Vet Sci 1996;60:218-21.

12. Czarnik U, Galiński M, Zabolwicz T, Pareek ChS. 2007. Study of SNP 775C>T polymorphism within the bovine ITGB2 gene in Polish Black-and-White cattle and in local breeds of cattle. Czech J Anim Sc 2007;52(3):57-61.

13. Konersmann Y, Wemheuer W, Brenig B. Origin, distribution and relevance of the CVM defect within the Holstein-Friesian population. Zuechtungskunde 2003;75:9-15.

14. Citek J, Blahova B. Recessive disorders - serious health hazard? J Applied Biomed 2004;2:187-94.

15. Revell S. Complex vertebral malformation in a Holstein calf in the UK. Vet Rec 2001;24:659-60.

16. Bendixen C. The CVM mutation is not restricted to descendants of the American Holstein Friesian bull Carlin-M Ivanhoe Bell. 2001 [Online] Available at: <http://www.cattle.dk/holstein/pres0111.htm>

17. Snoj T. Kompleksna vertebralne malformacija pri teleh žirno-bele pasme. Vet Nov 2002;28:197-9.

18. Grzybowski G. Zespół zniekształceń kregosłupa jego konsekwencje w hodowli bydła. Ed. Wet 2003;59:107-11.

19. Pazdera J. CVM letální porucha u skotu. Ná Chov 2001;4:23-4.

20. Agerholm JS, Bendixen C, Andersen O, Arnbjerg J. Complex vertebral malformation in Holstein calves. J Vet Diagn Invest 2001;13:283-9.

21. Duncan RB, Carrig CB; Agerholm JS; Bendixen C. Brief communications. Complex vertebral malformation in a Holstein calf: report of a case in the USA. Vet Diag Inves 2001;13:333-6.

22. Nagahata H, Oota H, Nitanai A, Oikawa S, Higuchi H, Nakade T *et al.* Complex vertebral malformation in a stillborn Holstein calf in Japan. J Vet Med Sci 2002; 64:1107-12.

23. Berglund B, Persson A, Stalhammar H. Effects of complex vertebral malformation on fertility in Swedish Holstein cattle. Act Vet Scand 2004;45:161-5.

24. Agerholm JS, Andersen O, Almskou MB, Bendixen C, Arnbjerg J, Aamand GP *et al.* Evaluation of the inheritance of the complex vertebral malformation syndrome by breeding studies. Act Vet Scand 2004;45:133-7.

25. Bendixen C, Svendsen S, Jensen H, Panitz F, Aasberg A, Holm LE *et al.*, inventors; Ministeriet for Fodervej, og Fiskeri Danmarks Jordbrugsforskning og Landbrug, assignee. Genetic test for the identification of carriers of complex vertebral malformations in cattle. International patent WO0240709. 2002 May 23.

les (ej. BVDV) constituyen un problema de diagnóstico. El diagnóstico presuntivo de CVM en la mayoría de los casos se basa en los resultados de la autopsia, combinados con la información sobre el pedigrí [25].

Es una enfermedad causada por una mutación puntual de G a T en el nucleótido en posición 559 del gen miembro 3 de la familia de transportadores de soluto 35 bovino (SLC35A3), localizado en el cromosoma 3 bovino [26]. Este gen codifica para el transportador de la UDP-N-acetylglucosamina y la mutación causa la sustitución de una valina por fenilalanina en la posición 180 [27]. A nivel molecular puede ser identificada por PCR-alelo específica, PCR-RFLP directamente o introduciendo un sitio de restricción en el fragmento amplificado PCR-PIRA [28]. Este último método emplea cebadores que introducen un sitio *Pst* I o *Eco* T22 en los productos de PCR a partir del tipo salvaje, respectivamente. Ambos oligonucleótidos son complementarios a la secuencia comprendida entre los nucleótidos 537 y 554 del gen de interés, pero ambos son diferentes en sus extremos 3' para introducir los sitios de restricción deseados, en dependencia del alelo a amplificar (Figura 1). El método permite discriminar entre animales con los alelos salvajes y CVM respectivamente, en vacas Holstein.

Ruśc y Kamiński [27] analizaron la estructura genética de una población de sementales Holstein-Friesian Polacos con respecto a la frecuencia de los genotipos G/C y T/G, como método para el monitoreo de portadores, mediante la detección de la mutación usando el polimorfismo de conformación de las cadenas simples (PCR-SSCP) [29]. Esta metodología se basa en el hecho de que la movilidad electroforética de una cadena simple de ADN no solo depende de la longitud y peso molecular sino también de su conformación. Los cambios en la secuencia de nucleótidos modifican la estructura secundaria del ADN, lo que resulta en cambios en la movilidad electroforética y sugiere la existencia de diferentes alelos para cada tipo de molécula con diferente conformación [30]. El método empleado permitió la discriminación entre animales sanos y aparentemente sanos (portadores), con el 24.75% de individuos que cargaban la mutación. Se concluye que es un método especialmente útil para el monitoreo de un gran número de animales pertenecientes a una población donde se conoce que está presente la mutación, por ser simple, con buena repetibilidad y relativamente barato para el diagnóstico de CVM. También permite establecer una señal de alerta cuando las frecuencias del alelo mutado se encuentran entre el 20 y 30% de la población.

Si las vacas o sementales portadores del alelo CMV no se usan para los cruzamientos, es posible eliminar la mutación de la población como se ha intentado hacer con la BLAD. Sin embargo, si la enfermedad estuviera ligada a caracteres de excelencia en los rebaños Holstein como pudiera ser el rendimiento lechero, la eliminación del gen podría resultar en la consecuente eliminación de un rasgo superior. Como se trata de un gen recesivo, es más conveniente su control que su eliminación del rebaño, lo que requiere un monitoreo extensivo para la detección de portadores, especialmente cuando se trata de las hembras.

Deficiencia de Uridina Monofosfato Sintasa

La deficiencia de la enzima uridina-5-monofosfato sintasa (DUMPS) es un desorden genético recesivo

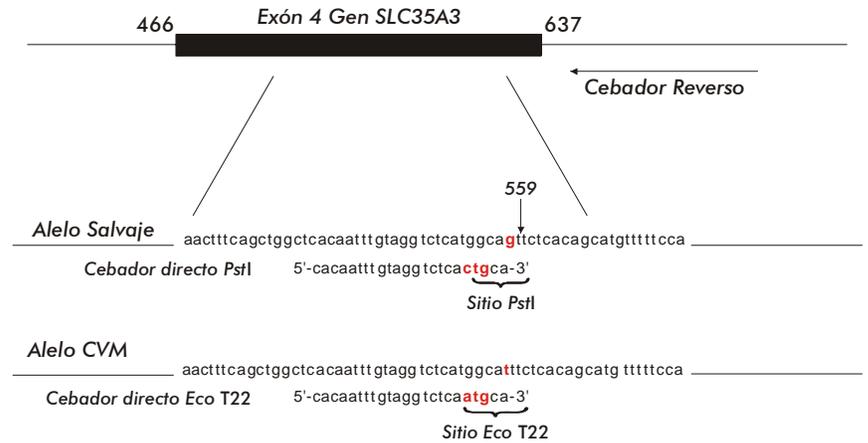


Figura 1. Representación esquemática del fragmento del gen SLC35AC amplificado por el método de PCR-PIRA (tomado de Kanae *et al.*, 2005 [28]).

que interfiere con la biosíntesis de pirimidinas, por ser la UMPS necesaria para la síntesis de novo de dichos nucleótidos, constituyentes del ARN y ADN. La enzima cataliza la conversión de ácido orótico a UMP, precursor de todas las otras pirimidinas y un constituyente normal de la leche de vaca y de otros rumiantes [16]. Esta deficiencia hereditaria ha sido identificada en humanos como una condición autonómica recesiva denominada aciduria orótica hereditaria. También se ha diagnosticado en bovinos, especialmente en vacas de las lecherías pertenecientes al rebaño de la Universidad de Illinois, EE.UU., donde se ha observado que se produjo en la leche de cinco a seis veces mayor concentración de ácido orótico que lo normal, así como en la sangre y orina de los animales lactantes [31]. Si está presente la mutación, se compromete el crecimiento y desarrollo de los terneros homocigóticos recesivos y se produce mortalidad embrionaria aproximadamente a los 40 días posconcepción [32]. Los heterocigóticos son portadores de la enfermedad y se identifican normalmente por mediciones de la enzima UMPS en los eritrocitos, cuya actividad disminuye casi a la mitad de los valores normales en el riñón, bazo, hígado, músculos y glándula mamaria [33]. El efecto práctico de la enfermedad es que las vacas muestran una elevada tasa de retorno al servicio, debido a que algunas de sus gestaciones terminan tempranamente a causa de los abortos [34].

La estructura genómica del gen *UMPS* ha sido determinada mediante una prueba basada en amplificación por PCR para la detección de los animales portadores. La enfermedad es causada por una mutación puntual (C→T) en el codón 405 del exon 5 [35], el cual ha sido mapeado en el bovino en el cromosoma 1 (q31-36) [36].

Un posible método de genotipado fue presentado en 1998 por Grzybowski *et al.* [37], quienes obtuvieron un producto amplificado de 108 pb alrededor de la mutación, partiendo del ADN genómico bovino. El producto fue digerido con *Ava* I y se pudo distinguir entre los animales normales (TD) y portadores (DP).

Citrulinemia bovina

La citrulinemia es otra de las enfermedades autosómicas recesivas que involucra un error en el metabolismo de la urea y origina una deficiencia de la actividad de la

26. Thomsen B, Horn P, Panitz F, Bendixen E, Petersen AH, Holm L *et al.* A missense mutation in the bovine *SLC35A3* gene, encoding a UDP-N-acetylglucosamine transporter, causes complex vertebral malformation. *Genome Res* 2006;16:97-105.

27. Rusc Anna, Kamiński S. Prevalence of complex vertebral malformation carriers among Polish Holstein-Friesian bulls. *J Appl Genet* 2007;48(3):247-52.

28. Kanae Y, Endoh D, Nagahata H, Hayashi M. A method for detecting complex vertebral malformation in Holstein calves using polymerase chain reaction-primer introduced restriction analysis. *J Vet Diagn Invest* 2005;17:258-62.

29. Orita M, Iwahana H, Kanazawa H, Hayashi K, Sekiya T. Detection of polymorphisms of human ADN by gel electrophoresis as single strand conformation polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:2766-70.

30. Robinson JL, Shanks RD. Review. The inherited deficiency of uridine monophosphate synthase in dairy cattle. *J CAAS* 1990;1:1-4.

31. Robinson JL, Popp RG, Shanks RD, Oosterhof A, Veerkamp JH. Testing for deficiency of uridine monophosphate synthase among Holstein-Friesian cattle of North America and Europe. *Livest Product Sci* 1993;36:287-98.

32. Shanks RD. Reproductive consequences of deficiency of uridine monophosphate synthase in Holstein cattle. *Am J Vet Res* 1990;51:800-2.

33. Fries R, Ruvinsky A. *The Genetics of Cattle*. Wallingford: CAB International; 1999.

34. Viana JL, Fernández A, Iglesias A, Santamarina G. Diagnóstico y control de las principales enfermedades genéticas (citrulinemia, DUMPS y BLAD) descritas en ganado Holstein-Frisón. *Med Vet* 1998;15:538-44.

35. Harlizius B, Schröber S, Tammen I, Simon T. Isolation of the bovine uridine monophosphate synthase gene to identify the molecular basis of DUMPS in cattle. *J Anim Breed Genet* 1996;113:303-9.

argininosuccinato sintasa (ASS). Este desorden fue identificado primeramente en seres humanos, luego en perros y posteriormente descrito en terneros Friesian. Los terneros afectados (homocigóticos) son incapaces de excretar amonio y manifiestan síntomas clínicos de intoxicación por hiperamonemia así como síntomas neurológicos que progresivamente empeoran y les provocan la muerte a una o dos semanas de nacidos [38]. Se ha identificado que uno de los toros portadores y diseminadores en la raza Holstein es Linmack Kriss King, con amplia utilización como semental.

El gen que codifica para la citada enzima se encuentra mapeado en el cromosoma BTA11 y dicha enfermedad se genera por la presencia de una mutación puntual, lo que permite diseñar un diagnóstico molecular directo por PCR-RFLP [1]. La enfermedad tiene su origen en la transición de citosina a timina en el codón 86 del exon 5 en el gen que codifica para ASS, el cual fue amplificado por PCR y detectada su mutación mediante la digestión del producto amplificado con la enzima *Ava II* [15, 39].

Conclusiones

A pesar de que las enfermedades hereditarias recesivas en el ganado bovino tienen muy baja frecuencia de aparición, en muchas ocasiones pueden influir significativamente en la economía ganadera. La diseminación masiva de defectos como los abordados en el presente trabajo ha sido causada por el uso extensivo de sementales élites portadores heterocigotos latentes, facilitada por el uso generalizado de la inseminación artificial.

Actualmente, la situación parece estar controlada al nivel internacional, sobre todo por el interés que han mostrado las asociaciones de criadores de genotipos especializados, fundamentalmente de la raza Holstein en diferentes países. Sin embargo, se recomienda mantener el monitoreo de sementales jóvenes para asegurar la erradicación cuidadosa del alelo recesivo de las poblaciones bovinas, sin comprometer demasiado las

características productivas. Esto implica el empleo de sistemas de riguroso control para evitar que la enfermedad aparezca como un serio problema de salud.

Pueden presentarse circunstancias especiales en las que un criador desee obtener descendencia de un semental élite, conocido portador de alguna de las enfermedades hereditarias importantes. En estos casos debe diseñarse una estrategia de cruzamiento que puede contemplar vacas sanas o incluso heterocigóticas portadoras, pero con un estricto control sobre la progenie que ha de ser obligatoriamente genotipada y de la cual, solamente los jóvenes sementales negativos (homocigóticos dominantes) podrán ser utilizados como futuros reproductores. Mayor seguridad se obtiene si se analizan todos los embriones obtenidos de progenitores portadores y solo se transfieren aquellos que no porten el alelo mutado. A pesar de ello, no se recomienda el uso de sementales portadores en campañas masivas de inseminación sobre toda una población.

Es importante señalar que a causa de los programas de mejoramiento genético, se han incrementado considerablemente los cruzamientos que utilizan como progenitores sementales Holstein sobre hembras de otras razas, incluso de genotipos autóctonos, lo que constituye un criterio que requiere un análisis de riesgo de la posible propagación de desórdenes genéticos propios de la raza especializada. Por lo tanto, es necesario mantener un monitoreo constante para evitar la erosión genética de las poblaciones autóctonas. Igualmente debe ponerse especial interés en los programas masivos de inseminación artificial para diagnosticar y confirmar aquellos individuos que manifiesten sintomatología clínica compatible con la presencia de enfermedades hereditarias autosómicas recesivas.

Los métodos de análisis basados en marcadores moleculares permiten el control de la salud genética de las poblaciones. La transferencia de dichas técnicas a la investigación en el campo de la salud animal constituye actualmente una premisa para obtener un rápido progreso en biotecnología animal.

36. Grzybowski G, Grzybowski T, Wozniak M, Chacinska-Buczek I, Smuda E, Lubieniecki K. Badania przesiewowe na obecność genu wczesnej obumieralności zarodków DUMPS u bydła w. *Polisce Med Wet* 1998;54:189-93.

37. Grupe S, Dietl G, Schwerin M. Population survey of citrullinemia on German Holsteins. *Livest Prod Sci* 1996;45:35-8.

38. Llambí S. Marcadores moleculares de ADN y su aplicación en sanidad de rodeos lecheros. Enfermedades hereditarias en rumiantes. 2005. [Online] Available at: <http://enfermedadeshereditariasderumiantes.blogspot.com/2005/05/marcadores-moleculares-de-adn-y.html> (Last retrieved in June 2nd, 2008).

39. Padeeri M, Vijaykumar K, Grupe S, Narayan MP, Schwerin M, Kumar MH. Incidence of hereditary Citrullinaemia and bovine leukocyte adhesion deficiency syndrome in Indian dairy cattle (*Bos taurus*, *Bos indicus*) and buffalo (*Bubalus bubalis*) population. *Arch Tierz* 1999;42:347-52.

Recibido en septiembre de 2008. Aprobado en marzo de 2009.