

IDENTIFICACIÓN DEL GEN PrP DEL SCRAPIE EN LA RAZA OVINA RASA ARAGONESA1

PONZ, R.; MONTEAGUDO, L.V. Y ARRUGA, M.V.

Laboratorio de Citogenética y Genética Molecular. Facultad de Veterinaria de Zaragoza. C/ Miguel Servet 177, 50013. Zaragoza (España)

RESUMEN

Las enfermedades prión o Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EETs) son desórdenes neurodegenerativos transmisibles. Se caracterizan por la acumulación de una forma modificada (PrP^{SC}) de la proteína prión celular (PrP^C) en el sistema nervioso central. El genotipo del gen que codifica la PrP ovina presenta polimorfismos decisivos en los codones 136, 154 y 171. Dependiendo de las bases modificadas en cada uno de estos codones se puede establecer el grado de susceptibilidad de cada animal a la enfermedad del scrapie.

En este trabajo se genotiparon sementales menores de 4 años de edad de la raza ovina Rasa Aragonesa, con el fin de conocer las frecuencias alélicas de estos animales y estimar las frecuencias de la población general.

Siguiendo las recomendaciones de la UE, es importante conocer las frecuencias de los alelos asociados a resistencia o susceptibilidad a dicha enfermedad en cada raza, de cara a aplicar las correcciones necesarias en los esquemas de selección.

Palabras clave: scrapie, Rasa Aragonesa, PrP, frecuencias alélicas, esquemas de selección.

INTRODUCCIÓN

En este último año, las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EETs) han tenido gran relevancia, tanto a nivel científico como en los medios de comunicación. Los casos aparecidos de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) en España han propiciado que el sector ovino se informe sobre la situación actual de los rebaños frente al scrapie, una enfermedad prión, de la misma familia que la EEB.

Dichas enfermedades prión se caracterizan por el acúmulo en los tejidos del Sistema Nervioso Central y en los tejidos linfoides de una forma anormal (PrP^{SC}) de una proteína prión celular que produce el organismo de forma natural (PrP^C).

La presencia natural de la enfermedad del Scrapie está fuertemente influenciada por los polimorfismos que presenta el gen que codifica la proteína prión celular. Los cambios de bases que se producen en tres codones (136, 154 y 171) de esta proteína prión van a determinar, en mayor o menor medida, la susceptibilidad de cada animal a padecer dicha enfermedad. Según el genotipo de cada animal se establecen 5 grupos. En el grupo 1 se engloban animales catalogados

como muy resistentes, y en el grupo 5 se incluyen los animales muy sensibles (Dawson *et al.*, 1998).

Ya que la resistencia al scrapie tiene un fuerte componente genético, es razonable tener en cuenta estos parámetros en los esquemas de selección.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este trabajo se utilizaron 62 sementales menores de 4 años de edad de la raza Rasa Aragonesa inscritos en el libro genealógico de la raza. Se analizaron los animales utilizados en el esquema de selección (25 animales), así como los sementales provenientes de 3 ganaderías que normalmente aportan machos para su testaje.

Se extrajo el DNA a partir de muestras sanguíneas. La detección de polimorfismos para los codones 136 y 154 se realizó mediante una amplificación por PCR, seguida de una digestión con el enzima de restricción *Bsp HI* (Tranulis *et al.*, 1999 y Hunter *et al.*, 1994). La identificación de los polimorfismos para el codón 171 se llevó a cabo mediante 2 reacciones de PCR y dos digestiones con los enzimas de restricción *Bsl I* y *AccI* (Yuzbasuyan-Gurkan *et al.*, 1999).

Se realizó una electroforesis en gel de agarosa de los productos obtenidos y posteriormente se leyó en un transiluminador ultravioleta.

La interpretación de las bandas obtenidas se realizó según lo descrito en Tranulis *et al.*, (1999) y Yuzbasuyan-Gurkan *et al.*, (1999). La clasificación del riesgo clínico a padecer scrapie según el genotipo está tomado de Dawson *et al.* (1998).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla I. Frecuencias alélicas encontradas en la población estudiada.

ALELOS	FRECUENCIAS
ARR	0,258
AHQ	0,032
ARH	0,032
ARQ	0,661
VRQ	0,016

En la Tabla I se indican las frecuencias obtenidas para cada uno de los alelos identificados. Se observa en los resultados una frecuencia baja (0,016) para el alelo asociado a

alta susceptibilidad VRQ y una frecuencia de 0,258 para el alelo ARR asociado a alta resistencia. El alelo más frecuente es ARQ con una frecuencia de 0,661.

Es interesante destacar que se han encontrado todos los polimorfismos posibles en las tres posiciones, si bien en frecuencias muy bajas en algunos de ellos. (0,016 para el alelo V₁₃₆, 0,032 para el H₁₅₄ y 0,032 para el H₁₇₁).

Las frecuencias observadas para los alelos ARR y ARQ no son significativamente diferentes a los encontrados por Sanz-Parra *et al.* (2001) en Latxa Cara Negra y Latxa Cara Rubia, pero se encuentran diferencias en las frecuencias del alelo hipersensible VRQ. Asimismo se ha evidenciado la presencia del alelo ARH, no presente en las razas anteriormente citadas ni en la Islandesa (Thorgeirsdottir *et al.*, 1999).

Tabla II. Frecuencias genotípicas de los animales estudiados.

GENOTIPOS	Nº DE ANIMALES	FRECUENCIA
AHQ/ARQ	4	0,0645
ARH/ARQ	2	0,0323
ARQ/ARQ	25	0,4032
ARQ/VRQ	2	0,0323
ARR/ARH	2	0,0323
ARR/ARQ	24	0,3871
ARR/ARR	3	0,0484

En la Tabla II se resumen los genotipos. El genotipo más frecuente entre los animales estudiados fue ARQ/ARQ (R4), con una frecuencia del 0,4032, seguido del ARR/ARQ (R3) con una frecuencia del 0,3871.

Tabla III. Grupos de riesgo identificados.

GRUPO DE RIESGO	Nº DE ANIMALES	PORCENTAJE
R1	3	5%
R3	31	50%
R4	26	42%
R5	2	3%

En la Tabla III se indican los 4 grupos de riesgo identificados, con el número de animales encuadrados en cada uno de ellos. Cabe destacar que, en el grupo de animales estudiado, el porcentaje de animales sensibles (R4 y R5) ha sido del 45%, lo que pone de manifiesto la

necesidad de realizar estos genotipados e incluir este criterio en el esquema de selección de esta raza.

Ante la falta de casos clínicos confirmados de scrapie entre los rebaños de raza Rasa Aragonesa, se hace imposible calcular la correlación entre poseer el genotipo sensible y el padecimiento de dicha enfermedad, así como establecer una tabla de riesgo específica para esta raza.

CONCLUSIONES

La realización de los estudios genéticos para el gen de la proteína PrP en ovino es un procedimiento rápido y fácil. El elevado porcentaje (45%) de animales que se incluirían en los grupos de mayor riesgo (R4 y R5) es un signo de advertencia para que se tomen las medidas necesarias para descender estas cifras. Una medida al respecto es el eliminar de los circuitos de inseminación y de los planes de mejora aquellos sementales con estos genotipos, al igual que se realiza en la práctica totalidad de los Esquemas de selección europeos.

Este método se está aplicando al plantel de sementales del Esquema de selección de la Asociación Nacional de criadores de Ganado ovino selecto de raza Rasa Aragonesa (ANGRA).

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado con la financiación de la Diputación General de Aragón (Proyecto de Investigación P014/2000, y Beca predoctoral). Agradecemos las facilidades prestadas por ANGRA y los ganaderos colaboradores en la toma de muestras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DAWSON, M.; HOINVILLE, L.J.; HOSIE, B.D. HUNTER, N. 1998. Guidance on the use of PrP genotyping as an aid in the control of clinical scrapie. *The Veterinary Record*, 142, 623-625
- HUNTER, N.; GOLDMAN, W.; SMITH, G.; HOPE, J. 1994. The association of a codon 136 PrP gene variant with the occurrence of natural scrapie. *Archives of Virology*. 137, 171-177
- SANZ-PARRA, A.; BARANDIKA, J.; BELTRAN DE HEREDIA, I.; ARRESE, F.; HURTADO, A.; JUSTE, R.A.; OPORTO, B.; GARCIA CRESPO, D.; GARCIA-PEREZ,

- A.L. 2001. Patrón de resistencia genética al Scrapie en ganado ovino de raza Latxa. ITEA, Volumen extra, número 22, Tomo I, 66-68
- THORGEIRSDOTTIR, S.; SIGURDARSON, S.; THORISSON, H. M.; GEORGSSON, G.; PALSDOTTIR, A. 1999. PrP gene polymorphism and natural scrapie in Icelandic sheep. Journal of General Virology, 80, 2527-2534.
- TRANULIS, M.A.; OSLAND, A.; BRATBERG, B.; ULVUND, M.J.. 1999. Prion protein gene polymorphisms in sheep with natural scrapie and healthy controls in Norway. Journal of General Virology, 80,1073-1077
- YUZBASUYAN-GURKAN, V.;KREHBIEL, J.D.; CAO, Y; VENTA, P. 1999. Development and usefulness of new polymerase chain reaction-based test for detection of different alleles at codons 136 and 171 of the ovine prion protein gene. American Journal of Veterinary Research. Vol 60, nº 7 884-887

IDENTIFICATION OF SCRAPIE PrP GENE IN THE RASA ARAGONESA OVINE BREED

SUMMARY

The prion diseases or Transmissible spongiform encephalopathies (TSE) are transmissible neurodegenerative disorders. They are characterized by the accumulation of a modified form (PrP^{Sc}) of the cellular prion protein (PrP^C) in the Central Nervous System. The genotype of the gene that codifies the ovine PrP shows decisive polymorphisms in 136, 154 and 171 codons. Depending on the modified base in each of these codons it is possible to set the susceptibility level of each animal to the scrapie disease

In this paper, there were genotyped younger than 4 year old rams of the sheep breed Rasa Aragonesa, in order to know the allelic frequencies of these animals and to estimate the frequencies of the general population.

Following the EU recommendation, it is important to know the allelic frequencies associated to resistance or susceptibility to this disease in each breed, in order to apply the necessary correctness in the selection schemes.

Key words: scrapie, Rasa Aragonesa, PrP, allelic frequencies, Selection schemes.