

CONSECUENCIAS DE LA SELECCIÓN PARA RESISTENCIA GENÉTICA AL SCRAPIE SOBRE EL GENOMA EN DESEQUILIBRIO GAMÉTICO CON EL GEN PRNP

Juan Altarriba¹, Carlos Moreno¹, Clara Díaz², Malena Serrano²

¹ Unidad de Genética cuantitativa y Mejora animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza.

² Departamento de Mejora Genética Animal. INIA. Crta. de la Coruña, Km. 7. 28040 Madrid.

Correo electrónico: altarrib@unizar.es

Introducción

En la especie ovina, el genotipo de los animales para el gen Prnp que codifica para la proteína priónica es en gran medida responsable de la susceptibilidad/resistencia a la encefalopatía espongiforme ovina conocida como “scrapie” (Belt et al., 1995; Hunter et al., 1997). Los polimorfismos detectados en los codones 136, 154 y 171 de dicho gen presentan una relación directa con los distintos grados de riesgo de contraer la enfermedad. El alelo ARR está asociado a resistencia a scrapie en su forma natural y el alelo VRQ a susceptibilidad (Hunter et al., 1996; Elsen et al., 1999). Sin embargo, existen alelos tales como AHQ, ARQ y ARH que presentan un comportamiento distinto en función de la raza (Hunter, 1997; Thorgeirsdottir et al., 1999). En general se admite que los animales con genotipo ARR/ARR son más resistentes a padecer la enfermedad, mientras que los VRQ/VRQ son los más sensibles. Con el fin de facilitar las decisiones de selección se ha establecido una clasificación en cinco niveles que relaciona el genotipo y el riesgo de contraer scrapie, donde R1 indica muy bajo riesgo tanto para el animal como para su descendencia, mientras que R5 indica un alto riesgo (Dawson et al., 1998).

En la Decisión 498 (DOUE, 2003), tomando como referencia el conocimiento actual de las bases genéticas de la enfermedad, se fijan los requisitos mínimos para el establecimiento de programas de cría de ovinos resistentes a las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET), y está en preparación legislación española que establezca las bases de regulación para la aplicación y desarrollo de un Programa Nacional de selección genética para la resistencia a las EETs en ovino (MAPyA, 2003). Esta legislación se fundamenta en la hipótesis de que la base genética de la EET ovina es similar a la bovina (BSE) y que, de alguna manera, si se obtienen individuos resistentes a scrapie se evitará la potencial transmisión al hombre de una nueva forma de BSE adquirida por los ovinos a través del consumo de harinas de carne infectadas. Para ello se preconiza la selección a favor del alelo ARR hasta alcanzar su fijación.

El objetivo del presente estudio es realizar una primera estimación de los cambios esperados en la estructura genética del genoma ovino en desequilibrio de ligamiento (gamético) con el gen Prnp, como consecuencia del efecto de arrastre ejercido por una selección favorable al alelo ARR en los programas de mejora de las poblaciones ovinas.

Metodología

Se realiza una simulación genética asumiendo que el gen Prnp posee sólo dos alelos funcionales, ARR y NO_ARR (incluyendo éste a AHQ, ARH, ARQ, VRQ, etc), con frecuencias alélicas iniciales de $p_0 = 0,2$ y $q_0 = 0,8$, como modelo de numerosas razas ovinas autóctonas españolas, y de $p_0 = 0,4$ y $q_0 = 0,6$, como ejemplificación de una situación bien distinta correspondiente a bastantes razas foráneas. A su vez, también se asume que el resto del genoma estudiado se encuentra en desequilibrio gamético a distancias de recombinación genética (c) de hasta 0,5 (Falconer y Mackay, 1996), caracterizado por loci dialélicos con frecuencias r_0 y $1 - r_0$. Finalmente, se asume que la magnitud del desequilibrio inicial, antes de la selección, es el 50% del desequilibrio máximo posible con las frecuencias génicas iniciales.

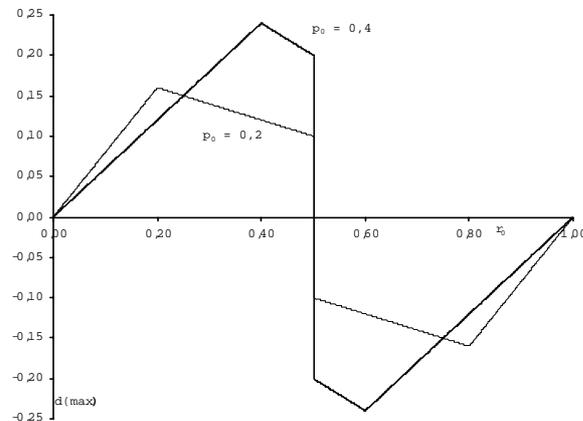
Se estudian dos estrategias de selección diferenciadas por las decisiones que afectan a los individuos heterocigotos ARR/NO_ARR. En ambas se ejerce una presión de selección s contra el homocigoto NO_ARR/NO_ARR y de s ó $s/2$ contra el heterocigoto, hasta alcanzar una frecuencia de $p = 0,95$ para el alelo ARR en ambos casos. No se ejerce selección directa sobre otros loci y no concurren procesos dispersivos que puedan afectar a las frecuencias génicas de la población.

Se estudian los cambios, expresados en porcentaje, que la selección sobre el gen Prnp produce en las frecuencias génicas de los loci neutrales a la selección, en el rango de $r_0 = 0,1 - 0,9$, aplicando cuatro intensidades de selección: $s = 1,00$ (ultrarápida), $s = 0,50$, $s = 0,25$ y $s = 0,10$ (lenta).

Resultados y discusión

En la Fig 1 se muestran los valores máximos posibles del desequilibrio gamético (Dmax) con las frecuencias génicas asumidas en los distintos pares de loci. El gen Prnp está representado por los valores del alelo $p(\text{ARR})_0 = 0,20$ y $0,40$, mientras que los otros genes lo están en la totalidad del espacio paramétrico ($r_0 = 0 - 1$). Puede observarse que el valor absoluto de Dmax es mínimo en los extremos de la distribución y alcanza valores máximos en la parte central, con algunos matices. El signo del desequilibrio refleja únicamente las distintas situaciones de atracción/repulsión entre los alelos considerados. Pues bien, los desequilibrios iniciales asumidos en cada caso simulado son el 50% de los reflejados en esta figura.

Fig 1. Desequilibrio máximo entre el locus Prnp con $p(\text{ARR})_0 = 0,20 - 0,40$ y el resto del genoma, en función de las frecuencias génicas $r(0)$.



En la Fig. 2 se muestra el cambio de las frecuencias génicas ($\% \Delta r$) en los loci con frecuencias génicas iniciales de $r_0 = 0,5$ en los genes neutrales, y $p(\text{ARR})_0 = 0,2$, en el locus Prnp sometido a selección, en función del coeficiente de recombinación y de las cuatro intensidades de selección. Tales distribuciones siguen un patrón general en las situaciones estudiadas con distintas frecuencias génicas. Efectivamente, el cambio generado en la frecuencia génica r , como consecuencia de la selección a favor del alelo ARR, es mayor cuanto mayor sea la intensidad de selección. A su vez, este cambio es más intenso en los loci más cercanos al locus Prnp, pero constatándose cambios importantes incluso en genes independientes (con $c = 0,5$), situados en cromosomas distintos. Se observa que la magnitud del cambio decrece a medida que nos alejamos del locus Prnp sobre el cual se realiza la selección, siendo este efecto más claro con bajas intensidades de selección. Cuando $s = 1$ las frecuencias arrastradas son relativamente constantes en el barrido de los coeficientes de recombinación. En cualquier caso se esperan consecuencias más importantes sobre una mayor porción del genoma cuanto más intensa es la selección ejercida. Parece lógico pensar que cuantas más generaciones sean necesarias para provocar el cambio en la frecuencia de ARR (hasta $p = 0,95$), mayores oportunidades tiene la recombinación genética para mantener una mayor proporción de la variabilidad inicial de los loci ligados.

Fig. 2. Cambio ($\% \Delta r$) de las frecuencias génicas de loci ligados a Prnp según el coeficiente de recombinación entre ambos

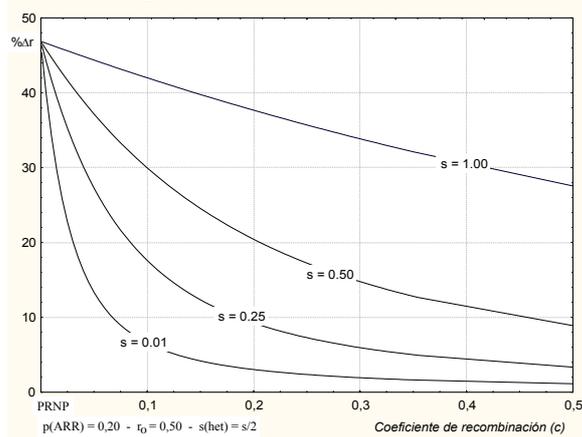
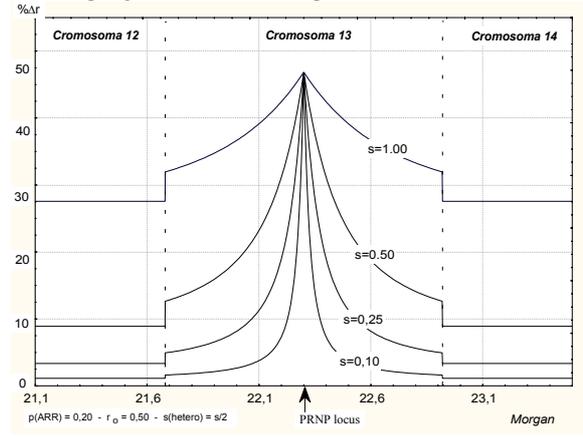


Fig.3. Cambio ($\% \Delta r$) de las frecuencias génicas de loci ligados a Prnp según la distancia de mapa entre ambos



En la Fig. 3 se muestra el cambio de las frecuencias alélicas r , en idéntica situación a la contemplada en la figura anterior, pero en función de la distancia de mapa. Para cada intensidad de selección se observa el cambio en las frecuencias génicas de los loci del cromosoma 13 (128,3 cM), en el cual se sitúa el locus PRNP (Castiglioni et al., 1998), y en el resto de los cromosomas, asumiendo una función de mapa de Haldane. A partir de estas distribuciones se ha estimado el cambio medio de las frecuencias génicas arrastradas en el cromosoma 13 y en el resto de los cromosomas (3628,6 cM en los 27 pares).

En las Fig. 4 y 5 se muestran los cambios medios generados con $p(\text{ARR})_0 = 0,2$, con una aptitud de los heterocigotos con la mitad o la totalidad del coeficiente de selección (s), respectivamente. Se observa que la magnitud de los cambios esperados en las frecuencias génicas son importantes con elevadas intensidades de selección, especialmente con frecuencias génicas iniciales extremas. En consecuencia, pueden esperarse mayores cambios en loci o caracteres adaptativos y/o de producción, que han alcanzado tal estructura como consecuencia de la selección natural o artificial, que en loci con frecuencias génicas intermedias, que pueden corresponderse mayoritariamente con genes neutrales a la selección previa ejercida a lo largo

del tiempo, en los cuales el cambio de la frecuencia génica lleva parejo una disminución de la variabilidad genética entendida como una disminución de la heterocigosidad.

Las Fig. 6 y 7 muestran los cambios medios generados cuando la frecuencia inicial del alelo ARR es 0,4, con una evolución semejante a la observada con frecuencias más bajas (0,2). Sin embargo, las magnitudes relativas del cambio son de menor entidad que en el caso anterior, dado que el fenómeno de arrastre se produce durante menos tiempo al ser las frecuencias iniciales y finales simuladas más próximas.

Fig. 4. % Δr medio en Cr. 13 y el resto de los cromosomas según la frecuencia génica inicial, con $p_0 = 0,2$ y $s(\text{het}) = s/2$.

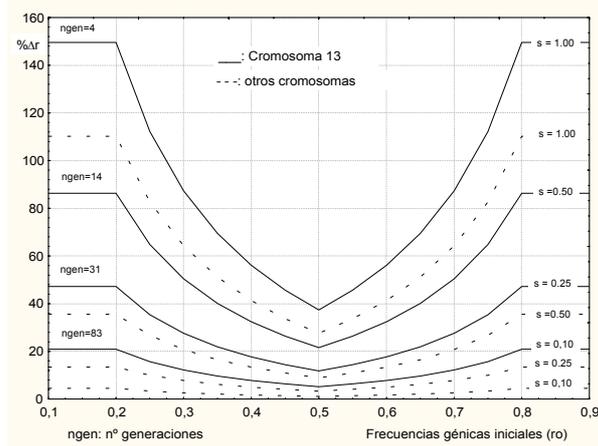


Fig. 5. % Δr medio en Cr. 13 y el resto de los cromosomas según la frecuencia génica inicial, con $p_0 = 0,2$ y $s(\text{het}) = s$.

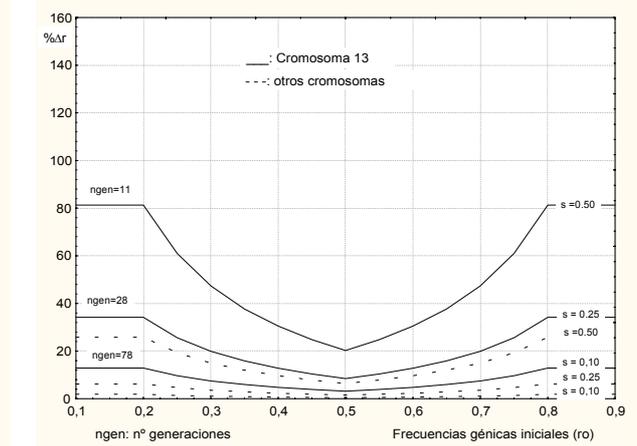


Fig. 6. % Δr medio en Cr. 13 y el resto de los cromosomas según la frecuencia génica inicial, con $p_0 = 0,4$ y $s(\text{het}) = s/2$.

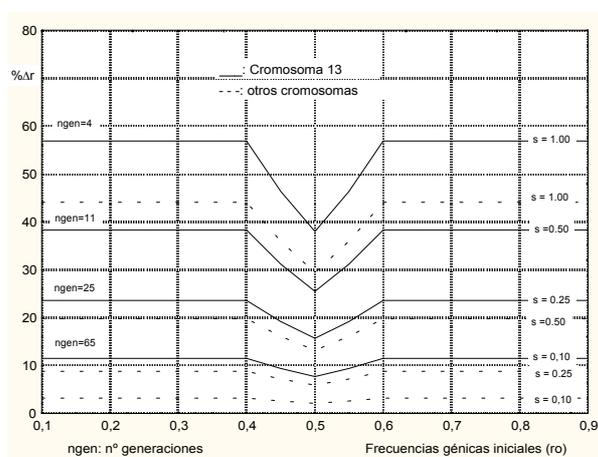
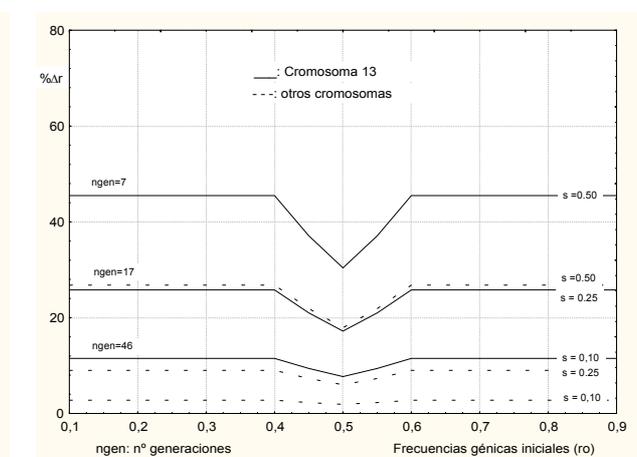


Fig. 7. % Δr medio en Cr. 13 y el resto de los cromosomas según la frecuencia génica inicial, con $p_0 = 0,4$ y $s(\text{het}) = s$.



En consecuencia, los cambios producidos en los loci ligados al locus PRNP pueden ser importantes en todo el genoma, especialmente en el cromosoma 13. Tales cambios son mayores cuanto más intensa sea la selección ejercida a favor del alelo ARR y en general cuanto menor sea la frecuencia de dicho alelo.

Este hecho, que los cambios sean más importantes en escenarios con bajas frecuencias del alelo ARR, es especialmente interesante toda vez que la mayor parte de las poblaciones ovinas españolas presentan frecuencias inferiores a 0,2 (Sanz-Parra et al., 2000; Acín et al., 2003; Ponz et al., 2003). En este sentido, los borradores de Reales Decretos en los cuales se establecen las medidas de control de las EET parecen poco sensatos, si previamente no se evalúa la incidencia de scrapie, se sigue sin conocer los modelos de resistencia/susceptibilidad en las razas autóctonas españolas y sin haber estudiado las posibles estrategias de control y sus consecuencias sobre las poblaciones ovinas españolas.

En todo caso, si se decide seguir con los planes de selección previstos, deberían preconizarse selecciones de baja intensidad en el intento de favorecer la resistencia asociada al alelo ARR con la mínima reorganización del genoma, aunque esto pueda exigir bastante tiempo. En caso contrario, deben esperarse cambios importantes en la estructura genética de las poblaciones en caracteres de todo tipo, en una dirección y magnitud impredecible. A los cambios aquí descritos, es necesario añadir los que pueden producirse como consecuencia de la deriva genética, cuyos efectos han sido excluidos en las simulaciones, y que resultan inevitables en el orden práctico.

Si lo que se pretende es evitar, como se dice, una nueva forma de BSE en ovinos potencialmente transmisible al hombre, hay dos hechos que deben destacarse: a) no existen evidencias experimentales de contagio espontáneo, por lo que estamos tratando de un riesgo teórico, como se reconoce en la decisión 498 (DOUE, 2003), y b) en cambio, si se apuesta por la eliminación a cualquier precio de tal posibilidad, existen evidencias experimentales de que animales con genotipo ARR/ARR inoculados intracerebralmente con priones provenientes de vacas enfermas contraen la enfermedad (Houston et al., 2003).

Conclusión

En este trabajo se pone de manifiesto que dedicar tan formidable esfuerzo de selección para elevar la frecuencia alélica de ARR, como está previsto en la normativa comunitaria y española, no parece una buena solución para resolver los problemas asociados a scrapie en las razas autóctonas, cuando además, al parecer, se desea seguir promoviendo estrategias para conservar el acervo genético de tales poblaciones en sistemas sostenibles. En cambio, parece más adecuado ir pensando en medidas de control y erradicación del agente infeccioso, directamente o evitando su difusión a través de las harinas de carne, antes que seguir cargando al sector productor con esta especie de culpabilidad inmerecida.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto EET2001-4891-C03-01.

Referencias bibliográficas

- Acín C, Martín-Burriel I, Lyahyai J, Monleón E, Rodellar C, Badiola JJ, Zaragoza P (2003). Riesgo genético del ovino aragonés a la enfermedad de scrapie. *X Jornadas sobre producción animal. ITEA 24 (Extra-II)*, 474-476.
- Belt BGM, Muileman IH, Schreuder BEC, Bos-De Ruijter J, Gielkens ALK, Smits MA (1995). Identification of five allelic variants of the sheep PrP gene and their association with natural scrapie. *Journal of General Virology* 76, 509-517.
- Castiglioni B, Comincini S, Drisaldi B, Motta T, Ferretti L (1998). Comparative mapping of the prion gene (PRNP) locus in cattle, sheep and human with PCR-generated probes. *Mammalian Genome* 9, 853-855.
- Dawson M, Hoinville LJ, Hosie BD, Hunter N (1998). Guidance on the use of PrP genotyping as an aid the control of clinical scrapie. *The Veterinary Record* 142, 623-625.
- DOUE (2003). Decisión 2003/498 de 13 de febrero.
- Elsen JM, Amigues Y, Schelcher F, Ducrocq V, Andreoletti O, Eychenne F, Tien Khang JV, Poivey JP, Lantier F, Laplanche JL (1999). Genetic susceptibility and transmission

factors in scrapie: details analysis of an epidemic in a closed flock of Romanov. *Arch. Virol* 144, 431-445.

- Falconer D, Mackay T (1996). Introduction to Quantitative Genetics. Longman, England.
- Houston F, Goldmann W, Chong A, Jeffrey M, González L, Foster J, Parnham D, Hunter N (2003). BSE in sheep bred for resistance to infection. *Nature* 423, 498.
- Hunter N (1997). Molecular biology and genetics of scrapie in sheep. In: Piper L, Ruvinsky A (eds). The genetic of sheep. CAB International, Wallingford, pp. 225-240.
- Hunter N, Foster JD, Goldman W, Stear MJ, Hope J, Bostock C (1996). Natural scrapie in close flock of Cheviot sheep occurs in specific PrP genotypes. *Arch. Virol.* 141, 809-824.
- Hunter N, Moore L, Hosie BD, Dingwall WS, Greig A (1997). Association between natural scrapie and PrP genotype in a flock of Suffolk sheep in Scotland. *The Veterinary Record* 140, 59-63.
- MAPyA (2003). Proyecto de Real Decreto por el que se establecen las bases de regulación del programa Nacional de selección genética para la resistencia a las encefalopatías espongiformes transmisibles (EETs) en ovino.
- Ponz, R., L.V. Monteagudo, Arruga MV (2003). Estimación de frecuencias genotípicas del gen PrP en la raza ovina Rasa aragonesa. Identificación de animales con alelos sensibles a scrapie. *Archivos de Zootecnia* 52, 85-88.
- Sanz-Parra A, Oporto B, Juste RA, Beltrán I, Gómez N, Garrido J, Arrese F (2000). Aplicación de las técnicas de tipado genético para la tembladera o scrapie en el programa de selección y mejora genética de la raza Latxa. *XXV Jornadas Científicas y IV Internacionales de la SEOC*, 259-263.
- Thorgeirsdottir S, Sigurdarson S, Thorisson HM, Georgsson G, Palsdottir A (1999). PrP gene polymorphism and natural scrapie in Icelandic sheep. *Journal of General Virology* 80, 2527-2534.