

# APLICACIONES PRÁCTICAS DEL ANÁLISIS DE ADN

Asociación Braford Argentina. 2008. Rev. Braford, Bs. As., 24(59):49-52.

[www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)

Volver a: [Genética en general](#)

Complementar los procedimientos de selección con las herramientas genéticas disponibles permite aumentar la eficiencia y disminuir el impacto sanitario-económico de enfermedades controlables.

Los avances científico-tecnológicos relacionados con la genética molecular han permitido mejorar el conocimiento acerca del genoma bovino -cuya secuencia completa se encuentra actualmente disponible en versión borrador- identificando múltiples regiones dentro del material genético (ácido desoxiribonucleico o ADN) con potencial para desarrollar aplicaciones biotecnológicas prácticas basadas en la tipificación de variaciones (polimorfismos) en la secuencia del ADN entre diferentes individuos. Estas aplicaciones incluyen desde identificación individual de animales y diagnósticos de paternidad como forma de avalar los registros genealógicos, hasta el desarrollo de herramientas metodológicas para apoyar los procesos de selección por características de interés productivo (sanidad, calidad de productos, etc.).

El ADN es una macromolécula con estructura de doble hélice, formada por cuatro tipos de nucleótidos diferenciados por sus bases nitrogenadas denominadas adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T), ordenados en una secuencia específica para cada organismo. Esta secuencia puede considerarse como un código que:

- a) determina la información genética que se transmite de generación en generación, y
- b) contribuye a definir las características de dichos organismos.

Dentro de cada secuencia de ADN es posible identificar regiones que presentan alta variabilidad entre individuos de la misma especie (o de una raza particular), por lo que pueden ser utilizadas como marcadores moleculares para identificar el aporte genético de cada reproductor a su descendencia mediante tipificación de ADN.

Entre los marcadores moleculares ampliamente utilizados en estudios genéticos se destacan los microsatélites (MS).

Éstos consisten en secuencias simples repetidas de longitud variable de acuerdo al número de repeticiones que presentan. En una población determinada se pueden identificar variantes (denominadas alelas) de cada MS en el ADN: para cada individuo se hereda un alelo del padre y otro alelo de la madre. Ambas variantes son identificables por comparación con los padres.

Estos MS presentan las siguientes ventajas desde el punto de vista de su utilización para tipificación genética:

- ◆ Son muy frecuentes en el ADN (estimándose entre 50 y 100.000 MS en un genoma), lo que permite ampliar el número de marcadores utilizados para la resolución de casos complejos
- ◆ Se encuentran distribuidos en todo el genoma, por lo que permiten estudiar asociaciones con genes localizados en diferentes cromosomas (mapeo genético)
- ◆ Presentan un alto nivel de variación (varios alelos posibles para cada MS), lo que incrementa la exactitud en casos de identificación individual y diagnósticos de paternidad
- ◆ Presentan herencia simple, por la cual cada individuo recibe un alelo de cada uno de sus progenitores
- ◆ No varían a lo largo de la vida de un individuo
- ◆ Pueden ser analizados a partir de una pequeña cantidad de material biológico de diversos orígenes, por ejemplo folículo piloso, sangre, semen, músculo, etc.

Estas ventajas facilitan su utilización en los siguientes casos:

- ◆ Determinación de paternidad en animales de pedigree y animales puros por cruce en casos de servicios múltiples. Este diagnóstico permite corroborar los registros genealógicos, aportando mayor exactitud en la selección fenotípica para caracteres productivos de herencia compleja.
- ◆ Detección de regiones cromosómicas que influyen en características cuantitativas utilizables para la investigación de diversos rasgos de interés productivo, como la producción de carne y leche o la resistencia a enfermedades.
- ◆ Aplicación de herramientas de sanidad preventiva.
- ◆ Identificación de animales individuales a lo largo de la cadena cárnica (trazabilidad) y de muestras relacionadas con casos de abigeato
- ◆ Estudios de diversidad genética en razas locales e introducidas.

En muchos casos presentados se dispone de evidencias sobre la existencia de asociaciones significativas entre marcadores moleculares y genes que codifican para alguna proteína de interés productivo (por ejemplo, enzimas con efectos sobre la terneza de la carne).

Debido a la variabilidad existente entre diferentes poblaciones animales es muy importante analizar y validar dichas asociaciones para diferentes razas, con lo cual sería posible desarrollar y difundir un conjunto de marcadores moleculares que contribuyan tanto al aseguramiento de identidad genética en muestras individuales como a los procesos de selección por caracteres de interés productivo.

Un capítulo aparte en la funcionalidad de estas herramientas lo constituye la responsabilidad social sanitaria y, como ejemplo práctico, se abordará el caso de la Enfermedad de Pompe (Pompe's disease). Este ejemplo permite analizar un caso paradigmático de actual relevancia: desactivar una grave amenaza con un simple test de laboratorio depende sólo de la decisión humana.

## ACERCA DE LA ENFERMEDAD

La Enfermedad de Pompe o Pompe's disease para la literatura internacional, es una enfermedad metabólica de origen genético, que afecta algunos mamíferos, entre ellos a bovinos de las razas Brahman y Shorthorn y al hombre. También suele denominarse Glucogénesis generalizada o Glucogénesis tipo II. Habida cuenta del componente Brahman, las razas sintéticas como Braford tienen riesgo potencial de tener al gen de la enfermedad de Pompe en su población.

Recibe su nombre en honor a su descubridor, el médico holandés Johannes Pompe, quien la describió por primera vez en humanos en 1932. Sin embargo debieron pasar más de 20 años para que se determinara su origen y se describiera en varias especies de mamíferos.

La enfermedad afecta el metabolismo de los hidratos de carbono. El más simple de ellos, la glucosa, es la principal fuente de energía de los tejidos animales. El metabolismo trabaja sobre la glucosa almacenándola o utilizándola según las necesidades fisiológicas. El almacenamiento se hace en forma de glucógeno, polímero de glucosa. La síntesis de glucógeno (glucogénesis) como así también su utilización (glucogólisis) están reguladas por un proceso enzimático denominado Ciclo de Krebs. Los animales que nacen con la enfermedad, heredan la deficiencia de una enzima conocida como alfa glucosidasa ácida (GAA). Esta enzima juega un rol fundamental en el proceso de glucogólisis, lo que en criollo significa que el individuo puede almacenar energía excedente pero no puede utilizarla en caso de necesidad.

La GAA se localiza en vesículas de la célula denominadas lisosomas. En un animal sano con actividad normal de GAA ésta enzima ayuda a la descomposición de glucógeno. En la enfermedad de Pompe la actividad de GAA es muy baja o inexistente y el glucógeno lisosómico no es degradado eficientemente, resultando en por tanto acumulación excesiva.

A medida que el glucógeno se acumula en las células afectadas, los lisosomas se pueden agrandar, lo que eventualmente deteriora las células y por ende la función muscular.

En fases posteriores de la enfermedad, los lisosomas incluso pueden romperse, liberando el glucógeno al resto de la célula. Aunque la deficiencia enzimática y el almacenamiento de glucógeno pueden ocurrir teóricamente en todas las células y tejidos, los músculos del corazón y del esqueleto son generalmente los más seriamente afectados.

La manifestación clínica más común de la enfermedad es una debilidad músculo esquelética progresiva que comienza a manifestarse usualmente después del destete y potenciada por el stress que éste produce. Esto lleva a la imposibilidad de los animales de mantenerse en pie y la consecuente muerte entre los 8 y 9 meses de vida. A la necropsia, no hay hallazgos significativos y solo se observa palidez muscular en las extremidades y cuello. La presencia de vacuolas citoplasmáticas en tejido muscular linfoide, hígado, riñón y neuronas son indicadores de glicogénesis generalizada.

## RESPONSABILIDAD EPIDEMIOLÓGICA

Australia es el país con más incidencia de esta patología. Algunos trabajos describen hasta un 15 por ciento de afección en rodeos Brahman (Wisselaar et al). Se identificaron allí tres mutaciones genéticas en bovinos que determinan la asíntesis de GAA. Dos de ellas, las denominadas E7 y E13 en Brahman y la E18 en Shorthorn. La E13 tiene la particularidad de haber sido hallada en una línea genética Brahman importada de USA. En Brasil, el Dr. Zlotowski de la Universidad de Río Grande do Sul describió la presencia de la enfermedad en 10 terneros Brahman en 2004. Tratándose de un carácter recesivo (p), debe encontrarse en homocigosis para expresarse (pp). En tal caso y habida cuenta de la fisiopatología de la enfermedad, estos homocigotos recesivos no son viables, a menos que sean detectados en forma temprana y tratados con terapéutica enzimática de reemplazo, tal como ocurre en medicina humana.

Desde el punto de vista epidemiológico, el desafío reside en primer lugar en detectar los portadores sanos de la enfermedad (Pp). Esto es, aquellos individuos que tienen el gen recesivo, no lo expresan, pero en caso de apareamiento con otro ejemplar heterocigoto, un 25 por ciento de su progenie sería homocigoto recesivo y moriría, y un 50 por ciento sería portador sano, contribuyendo a diseminar la enfermedad. En segundo lugar, tomar las decisiones acertadas frente a esos portadores "sanos".

La genética molecular provee hoy de herramientas simples y relativamente económicas para el control y erradicación de la enfermedad. Desde 1990 se está trabajando en el componente genético de la enfermedad. En el año 2000 y estudiando el genoma de los mamíferos, los doctores J. Dennis y P Healy determinaron la ubicación de los genes causantes de la enfermedad, en un locus del cromosoma 19. A partir de eso y con la masificación y estandarización de los análisis de marcadores genéticos, los criadores cuentan con una herramienta simple y sencilla para detectar portadores. Primer etapa cumplida.

Ahora cabe preguntarse cual es la decisión acertada a tomar con los individuos Pp. En los países que esta enfermedad tiene un grado de prevalencia importante, la detección de portadores debería ser de rutina, como así también su eliminación de los planes de crianza. La información relevada nos indica que esto no sucede así. Las decisiones quedan relegadas al arbitrio individual, lo que contribuye a aumentar la población de portadores sanos (homocigotos recesivos) que diseminan la enfermedad y las pérdidas por destete.

En Argentina, la situación es diferente y deberíamos actuar con inteligencia. La enfermedad no está presente en los rodeos, por lo que se podría considerar "exótica", calificación reservada a las infectocontagiosas. Atendiendo al comportamiento socio - epidemiológico en otros países y los flujos de genética, lo ideal es no importarla y diseminarla masivamente. La aparición de un ejemplar portador sano de la enfermedad debe ser interpretada como una alerta, un llamado de atención, una oportunidad de conocer la enfermedad y sus consecuencias y una extraordinaria ocasión para ejecutar la responsabilidad social sanitaria.

La Asociación Braford Argentina propuso incorporar el test genético de Pompe's disease como obligatorio en el Protocolo sanitario para importación de reproductores Braford, como así también para dar de alta como dadores de semen o embriones a reproductores nacionales en centros de IA y TE. De éste modo, se evitarían potenciales nuevos ingresos y posterior diseminación. Adicionalmente, la entidad sugirió hacer un screening o barrido sobre toda la progenie del ejemplar detectado, eliminando de los sistemas de cría todos los portadores sanos (Pp) y sacrificando los homocigotos recesivos.

La ABA propone y sugiere con espíritu de responsabilidad social y escaso poder de policía. La decisión de los involucrados de acompañar las sugerencias es de su potestad, no así los efectos indeseados de una mala determinación.

Es una aparente mala noticia que se haya presentado un caso. Pero es una enfermedad metabólica y de origen genético. No es infecciosa, ni contagiosa, ni venérea ni zoonótica. Por lo tanto, su control y erradicación es harto simple con la tecnología disponible y depende sólo de una acertada toma de decisiones.

## CONCLUSIONES

En los últimos años la biotecnología ha desarrollado y adaptado procedimientos aplicables en la tipificación de ADN en bovinos y ha permitido evaluar diversos casos de uso de prototipos de diagnóstico molecular que resultan de interés para su implementación y aplicación.

Estas herramientas permiten desarrollar programas de mejoramiento genético con gran precisión, facilitando la identificación de los reproductores y la determinación de paternidad en el caso de servicios múltiples.

Asimismo se ha avanzado en la caracterización de polimorfismos para algunos genes relacionados con calidad del producto, la resistencia a parásitos y la transmisión de enfermedad genéticas. Estos mismos puede (y deberían) ser incorporados en sistemas de selección asistida por marcadores, con características funcionales para cada condición productiva particular.

Las decisiones respecto a la sanidad de nuestros rodeos no siempre son privadas, porque algunas enfermedades no reconocen fronteras o propiedad. Permanecer libres de, en este caso particular, la Enfermedad de Pompe, o diseminarla es solo un tema de responsabilidad social sanitaria de los involucrados.

[Volver a: Genética en general](#)