

DETECCION DE LA MUTACIÓN RESPONSABLE DE α -MANOSIDOSIS EN BOVINOS CRUZA ANGUS DE ARGENTINA

D. Vilte¹, C. Garro¹, M. Ebinger³, W. Morris¹, C. Olgún Perglione², S. Garbaccio¹, F. Delgado¹
¹⁻³Inst. Patobiología e Inst. Virología, CICVyA, INTA ²Practica privada. garbaccio.sergio@inta.gob.ar

Introducción

La α -manosidosis es una enfermedad de almacenamiento lisosomal causada por la acumulación intracitoplasmática de hidratos de carbono, debido a un defecto congénito o adquirido de la enzima α -manosidasa. La forma congénita ha sido descrita para diversas razas. En la raza Angus, esta ocurre en animales homocigotas que posean una mutación puntual (transición) en el exón 7 del gen que codifica la enzima. Esto produce el cambio de una base T por una C en la posición 961 del gen que sustituye un aminoácido, dando como resultado una proteína defectuosa con actividad nula. Generalmente los terneros afectados no sobreviven al período postnatal, y los que lo hacen muestran enfermedad neurológica progresiva y severa caracterizada por temblores de cabeza, ataxia y agresividad que termina en la muerte. Si bien su diagnóstico puede realizarse por varios métodos, para determinar el origen congénito del cuadro es necesario determinar la homocigosis para el alelo alterado en animales afectados, lo cual es necesario también para prevenir la aparición de la enfermedad. El objetivo del presente trabajo fue aplicar un procedimiento previamente descrito para determinar la presencia de animales portadores de la mutación responsable de la α -manosidosis en bovinos cruce Angus de un establecimiento de cría de Argentina.

Materiales y métodos

En un establecimiento de cría con antecedentes de α -manosidosis en terneros se colectaron muestras de pelo de 8 reproductores (6 hembras y 2 machos) cruce de Angus negro y colorado, clínicamente sanos,. De las mismas se extrajo ADN genómico de bulbo piloso mediante un kit comercial (ADN Puriprep T- Inbio Highway, Argentina) según indicaciones del fabricante, y se amplificó con una polimerasa de alta fidelidad una región del gen de la alfa manosidasa que incluye al exón 7 (GenBank number AH006593.2 *Bos taurus* lysosomal alpha-mannosidase (ManB) gene). El producto amplificado fue purificado (ADN Puriprep GP, Inbio Highway, Argentina) y enviado a secuenciar (Servicio de secuenciación, Unidad de Genómica IB,-CICVyA, INTA).

Resultados

Se detectó el alelo asociado a la enfermedad y su condición de portador heterocigota para una transición (T \rightarrow C) en el exón 7 del gen de la alfa manosidasa lisosómica en 4 animales (1 macho y 3 hembras).

Discusión y conclusiones

La metodología empleada permitió detectar animales portadores del alelo causante de α -manosidosis congénita. La revisión de los registros del establecimiento indicó que al menos 1 ternero nacido como producto de la cruce de los animales identificados portadores manifestó el cuadro clínico y tuvo diagnóstico de la enfermedad, lo cual confirmaría la condición de los padres.

La portabilidad del alelo causante de enfermedad en los reproductores determina el desarrollo de α -manosidosis congénita en un rodeo. Sin embargo, debido al carácter recesivo del mismo la prevalencia de la enfermedad suele ser baja. La elevada reposición interna registrada en el rodeo analizado habría favorecido la ocurrencia de esta enfermedad como de otras malformaciones.

Si bien α -manosidosis ha sido descrita en Argentina, nunca se determinó el origen genético de dicho trastorno. La metodología empleada en el presente trabajo permitiría confirmar la etiología de casos clínicos y evaluar la presencia del alelo asociado a enfermedad en reproductores, especialmente en establecimientos con elevada consanguinidad en los que se observe enfermedad neurológica fatal esporádica en terneros.



Figura 1: Rodeo de bovinos cruce Aberdeen Angus analizados

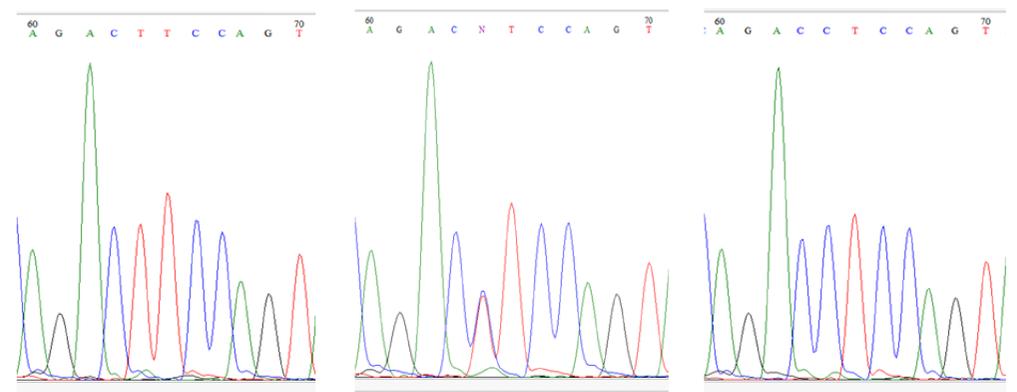


Figura 2: Electroferograma mostrando parte de la secuencia analizada donde se detecta la mutación sin sentido en los animales analizados. A) Secuencia normal. B) Portador heterocigota. C) Homocigota recesivo.

Bibliografía

- Gianitti F, Uzal FA, Diab SS, Ortega J, Nordhausen R, Weber N, Gimeno EJ. α -manosidosis en un ternero Aberdeen Angus colorado. VII Reunion Argentina de Patología Veterinaria, Bs As, Julio 2010.
- Tollersrud OK1, Berg T, Healy P, Evjen G, Ramachandran U, Nilssen O. Purification of bovine lysosomal alpha-mannosidase, characterization of its gene and determination of two mutations that cause alpha-mannosidosis. Eur J Biochem. 1997 1;246 (2):410-9.
- Berg T, Healy PJ, Tollersrud O. Molecular heterogeneity for bovine alpha-mannosidosis: PCR based assays for detection of breed-specific mutations. Res Vet Sci. 1997 ;63 (3):279-82.