

gijón

Asturias con sal



**VII CONGRESO IBERICO
SOBRE RECURSOS
GENETICOS
ANIMALES**

**16-18 septiembre
RECINTO LUIS ADARO
Gijón 2010**

**PONENCIAS
COMUNICACIONES**

Detección de portadores y prevalencia de la enfermedad genética recesiva “Epidermólisis Bullosa” (jeb) en la Raza Equina Cavall Pirinenc Català

Infante, J.N.¹, A. Ferrando¹, P.M. Parés², P. Casas³, M. Boleda³ y J. Jordana^{1*}

¹ Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, Barcelona, Espanya

² Departament de Producció Animal (Ciència i Salut Animal), Universitat de Lleida, Av. Alcalde Rovira Roure, 191, 25198-Lleida, Espanya

³ Federació d'Associacions de Criadors de Cavall Pirinenc Català (FECAPI). Avinguda Salòria, 71 baixos. 25700-La Seu d'Urgell, Lleida, Espanya.

La epidermólisis bullosa (JEB; siglas en inglés) es una enfermedad letal hereditaria que afecta a diferentes razas de caballos pesados, como el Bretón, el Comtois, o el Belga. En éstos, se ha descrito que una de las causas de la JEB está relacionada con la mutación de un gen que codifica para una subunidad de la proteína laminina 5, esencial para el anclaje de la dermis y la epidermis. Esta proteína está formada por tres subunidades α_3 , β_3 y γ_2 codificadas por tres genes (LAMA3, LAMB3 y LAMC2, respectivamente). La JEB causa que el tejido cutáneo de los potros se erosione gravemente al poco de nacer, provocando lesiones severas que se infectan rápidamente. Generalmente, los potros mueren a los pocos días o son eutanasiados para evitar su sufrimiento. Dado que el Cavall Pirinenc Català (CPC) ha recibido una gran influencia de la raza Bretona, y en menor medida de la Comtois, se ha analizado si la mutación responsable de los casos descritos en estas razas (1368insC del gen LAMC2) segrega también en el CPC. Para ello, se secuenció un fragmento de 173 pb del exón 10 del gen LAMC2 en animales afectados, portadores y control. Una vez confirmado que se trataba de la misma mutación, se analizó una muestra representativa y aleatoria de la población de 205 individuos (112 sementales y 93 yeguas), detectándose 8 portadores (4 machos y 4 hembras). La prevalencia media fue de casi el 4% (3,6% para machos y 4,3% para hembras). Los valores obtenidos para los sementales reproductores fueron más bajos que los reportados para el Bretón o el Comtois, con el 14 y el 8%, respectivamente.

DETECCIÓN DE PORTADORES Y PREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD GENÉTICA RECESIVA “EPIDERMÓLISIS BULLOSA” (JEB) EN LA RAZA EQUINA CAVALL PIRINENC CATALÀ

Infante, J.N.¹, A. Ferrando¹, P.M. Parés², P. Casas³, M. Boleda³ y J. Jordana¹.

1. Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, Barcelona, Spain
2. Departament de Producció Animal (Ciència i Salut Animal), Universitat de Lleida, Av. Alcalde Rovira Roure, 191, 25198-Lleida, Spain
3. Federació d'Associacions de Criadors de Cavall Pirinenc Català (FECAPI). Avinguda Salòria, 71 baixos. 25700-La Seu d'Urgell, Lleida, Spain.

UAB
Universitat Autònoma
de Barcelona

INTRODUCCIÓN

La Epidermólisis Bullosa o JEB (por sus siglas en inglés Junctional Epydermolisis Bullosa) es una enfermedad de carácter autosómico recesivo que afecta a algunas razas de caballos pesados, como Bretones y Belgas, además de los caballos americanos Saddlebred (Lieto *et al.* 2002; Milenkovic *et al.* 2003). La enfermedad está provocada por la ausencia de la proteína laminina 5 que juega un importante papel en la unión de la dermis y la epidermis. Los potros afectados desarrollan lesiones severas del epitelio cutáneo que se infecta rápidamente y, generalmente, mueren a los pocos días o son eutanasiados para evitar su sufrimiento.

Esta proteína está formada por tres subunidades $\alpha 3$, $\beta 3$ y $\gamma 2$ codificadas por tres genes (*LAMA3*, *LAMB3* y *LAMC2*). Spirito *et al.* (2002), describieron la mutación causal en la raza del caballo Belga: la inserción de una citosina en uno de los exones de la subunidad $\gamma 2$ (1368insC) que provoca la aparición de un codón de terminación prematuro. Sólo los animales homocigotos para el alelo mutante están afectados de JEB.

La JEB se ha observado en otras razas equinas que comparten un mismo origen o que han recibido la influencia de un flujo génico reciente, teniendo más probabilidades de ser portadores de la misma mutación. La inserción 1368insC es la mutación causal de casos JEB en caballos de razas Belga (Spirito *et al.* 2002), Bretón y Comtois (Milenkovic *et al.* 2003). En Norte América, el 17% de los caballos Belgas eran portadores de la mutación y en Europa del 8 al 27% de caballos de razas pesadas como el Bretón, Comtois, Vlaams Paard, y Belgische Koubloed Flander (Baird *et al.* 2003). Por otro lado, en los caballos de la raza American Saddlebred los casos de JEB estuvieron provocados por mutaciones en el gen *LAMA3* (Lieto *et al.* 2003), probablemente, debido a una delección parcial de 6589 pb (Graves *et al.* 2008).

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó con 205 caballos (93 hembras y 112 machos) pertenecientes a la raza española Cavall Pirinenc Català (CPC). Las muestras fueron tomadas de manera aleatoria y sin relación de parentesco en las 7 comarcas catalanas en las que se distribuye la raza: Val d'Aran, Alt Urgell, Cerdanya, Pallars Jussà, Pallars Sobirà, Alta Ribagorça y Ripollès (Tabla 1).

Las muestras de ADN fueron extraídas a partir del bulbo de pelo o sangre con el protocolo de fenol/cloroformo, luego fueron amplificadas para un fragmento del gen *LAMC2* (Spirito *et al.* 2002) que incluye la posición donde se produce la mutación 1368insC. El cebador *forward* fue marcado con un fluorocromo 6-FAM. El alelo mutado genera una banda de más con respecto al alelo normal (Figura 1). Para obtener bandas inequívocas se modificó el cebador *reverse*, añadiendo una cola de 7 bases (5'-GTTTCI-CTG GGG GCA GTT ATT GCA C-3'). Los productos de PCR se analizaron por electroforesis capilar en un secuenciador automático ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) incluyendo un marcador interno. Los alelos fueron analizados y tipificados con el programa Peak Scanner Software 1.0 (Applied Biosystems).

Finalmente, se determinó el porcentaje de incidencia del alelo causante de la enfermedad JEB, por comarca y sexo para la población del CPC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los resultados de los análisis de los 205 animales para la enfermedad JEB. Se detectaron 8 animales portadores, 4 hembras y 4 machos, con el 4,3% y 3,6% de prevalencia en yeguas y sementales, respectivamente, y un 4% para toda la raza. El valor encontrado en el CPC es más bajo que los reportados en otras razas equinas de tipo pesado, que van del 8% al 27% (Finno *et al.* 2009). Con respecto a las razas con las que el CPC tiene una mayor relación, como el Bretón y el Comtois se han reportado el 14% y el 8%, respectivamente.

Dado que la mutación tiene un patrón hereditario autosómico recesivo, asumiendo un porcentaje global de portadores del 4% en la población (y un mismo porcentaje de portadores entre machos y hembras) :

- La probabilidad de que nazca un potro afectado, con apareamientos realizados al azar, es del 0,04% (1 de cada 2500 nacimientos).
- La probabilidad de que un animal portador, con un apareamiento realizado al azar, tenga un descendiente afectado es del 1% (1 de cada 100 nacimientos).
- La probabilidad de que dos animales portadores tengan un descendiente afectado es del 25% (1 de cada 4 nacimientos).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baird, J.D., Millon, L.V., Dileanis, S., Penedo, M.C., Charlesworth, A., Spirito, F. & Meneguzzi, G. (2003) *Proceedings of the 49th Annual American Association of Equine Practitioners Convention*, New Orleans, LA, pp. 122-125.
- Finno, C.J., Spier, S. & Valberg, S. (2009) *The Veterinary Journal*, 179: 336-347.
- Graves, K.T., Henney, P.J. & Ennis, R.B. (2008) *Genetics*, 40: 35-41
- Lieto, L.D., Swerczek, T.W. & Cothran, E.G. (2002) *Veterinary Pathology*, 39: 576-580.
- Lieto, L.D. & Cothran, E.G. (2003) *Cytogenetic and Genome Research*, 102: 1-4.
- Milenkovic, D., Chaffaux, S., Taouit, S. & Guérin, G. (2003) *Genetics, Selection, Evolution*, 35: 249-256.
- Spirito, F., Charlesworth, A., Linder, K., Ortonne, J-P., Baird, J. & Meneguzzi, G. (2002) *The Journal of Investigative Dermatology*, 119: 684-691.



Foto 1: Ejemplar de la raza Cavall Pirinenc Català

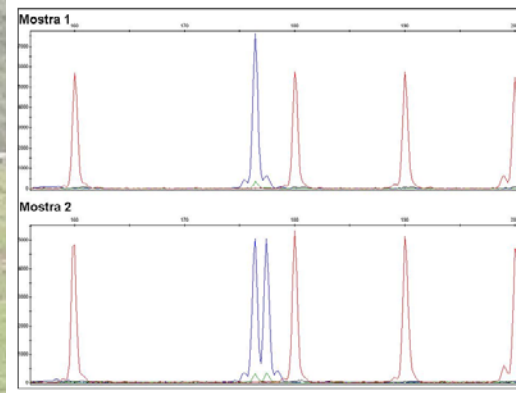


Fotos 2 y 3: Potros afectados por la JEB, con lesiones epiteliales muy severas.

Tabla 1. Número de individuos analizados y de portadores (heterocigotos) para la mutación 1368insC según la comarca de origen y sexo, en la raza Cavall Pirinenc Català.

Comarca	Número de animales analizados			Número de portadores		
	Machos	Hembras	Total	Machos	Hembras	Total
Alt Urgell	5	2	7	0	0	0
Alta Ribagorça	6	14	20	0	1	1
Cerdanya	10	13	23	1	0	1
Pallars Jussà	4	10	14	0	0	0
Pallars Sobirà	76	10	86	2	2	4
Ripollès	10	32	42	1	1	2
Val d'Aran	1	12	13	0	0	0
Total	112	93	205	4	4	8

Figura 1: Genotipado de dos muestras del Cavall Pirinenc Català para la detección de la mutación 1368insC. Los alelos amplificados por PCR aparecen en azul. Los picos rojos corresponden al marcador de peso molecular. La muestra 1 corresponde a un animal no portador y sólo aparece un pico. La muestra 2 pertenece a un animal portador, se puede ver la presencia de dos picos: el alelo normal (a la izquierda) y el alelo con la mutación (a la derecha).



AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado a través de un convenio de colaboración promovido y financiado por el Departament d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural (DAR) de la Generalitat de Catalunya con la Universitat Autònoma de Barcelona. Tambiènn agradecemos a los ganaderos y a las diferentes asociaciones de las razas su ayuda y colaboración.