

scrapie

Resistencia genética

ROSA CASTILLO CHOCARRO

(Técnica de la Asociación de Raza ovina Navarra - ARANA -)



En la actualidad se oyen conceptos relacionados con los genes, cromosomas y con aspectos relacionados con la parte más íntima, única, diferenciable y hasta hace poco desconocida de los individuos. Nos hablan de ello como si cada vez que oyéramos una palabra de ese tipo (ADN, genotipo, gen, prión) todos ya fuéramos especialistas en la materia y supiéramos de qué se trata como si nos hablaran de la boca, los dientes o la pezuña. Y lo cierto es que todos estos conceptos han surgido de una investigación científica muy reciente y han saltado a los medios de comunicación a raíz de unas problemas sanitarios

concretos.

Ante la avalancha de noticias, no siempre bien explicadas, que afectan a la sanidad animal, nos parece importante informar al ganadero de ovino de un modo veraz sobre los aspectos que le atañen más directamente en este caso.

El 13 de Febrero de 2003 la Comisión Europea fijó los requisitos mínimos para el establecimiento de programas de cría de ovino resistentes a las encefalopatías espongiiformes transmisibles (EET's). Esto que parece indescifrable vamos a intentar aclarar qué es y cómo se va a hacer, a lo largo del presente artículo.

LA EET DE LAS OVEJAS O "SCRAPIE"



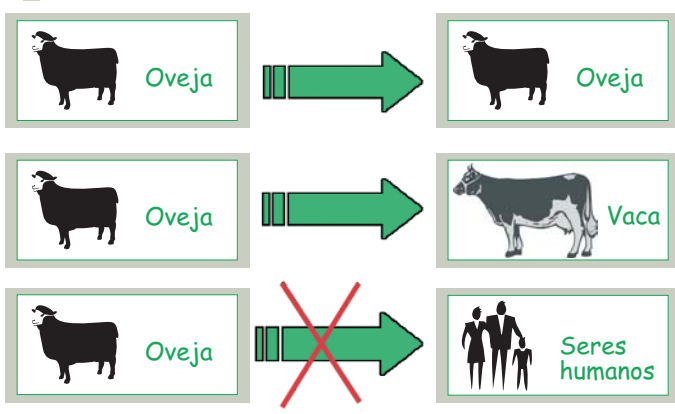
Qué es

Las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET's) son llamadas de esta forma porque el cerebro del animal enfermo queda acribillado de agujeros y recuerda a una esponja. Se dice "transmisible" porque se contagia de unos animales a otros, en general dentro de la misma especie. Actualmente se las conoce como enfermedades priónicas debido a que es un "prión" el agente infeccioso que provoca la enfermedad.

A día de hoy, las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET's) se han hecho famosas a raíz de la crisis de las "vacas locas". Pero no se trata de un problema nuevo. De siempre, los veterinarios y los médicos han conocido las EET's, propias de las especies que cada uno trata, y concretamente de la EET del ovino hay referencias bibliográficas desde hace 300 años. Recibe el nombre de SCRAPIE (del verbo inglés "to scrape" = rascarse) o TEMBLADERA OVINA (por los movimientos involuntarios que hacen que el animal tiemble), y en 2004 sabemos de ella que (Figura 1):

- Se transmite de oveja a oveja, siendo un momento delicado en la transmisión el momento del parto, por la placenta.
- No se transmite por semen (macho-oveja).
- No se transmite al hombre (no es una zoonosis como lo es la brucelosis).
- Se transmite a las vacas a través de las harinas de carne y hueso procedentes de animales ovinos infectados.

FIGURA 1: TRANSMISIÓN DE SCRAPIE.



La epidemia de las "vacas locas", en el Reino Unido, a partir del año 1988, parece ser debida a una conjunción de dos factores: una elevada incidencia de scrapie en las ovejas en el citado país y un cambio en el proceso de fabricación de piensos por ahorro energético.

Pero, ahora que afortunadamente la crisis ya ha pasado, no es momento de buscar culpables, sino de entender todos los conceptos con los que se nos bombardea a diario en la prensa y ver qué aplicación tienen en la cría de nuestros animales con el fin de mantener a lo largo de la cadena de producción las garantías necesarias.

Conceptos básicos

Vamos a definir algunos de estos conceptos:

ADN: Acido Desoxirribonucléico; presente en cantidad igual en todas las células de una misma especie. Es el material que se hereda de padres a hijos. (Fig. 2).

Sin entrar en más detalles sobre su composición química, hay que decir que son tantas las posibles combinaciones de sus componentes que hacen que TODO INDIVIDUO SEA ÚNICO DENTRO DE SU ESPECIE (a excepción de los gemelos idénticos que lo son porque tienen igual ADN).

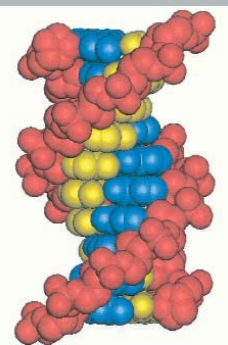


Figura 2: Hélice de ADN.

CROMOSOMAS: En determinados momentos el ADN se condensa y es la forma visible, al microscopio, del material genético. (Fig 3)

De cada cromosoma existen dos ejemplares (uno del padre y otro de la madre) y el número de cromosomas es constante para una misma especie.

Vamos a centrarnos en una de estas enfermedades (EET's), el SCRAPIE, que afecta a ovejas y cabras. Los animales afectados pierden coordinación, a veces no pueden permanecer de pie; se vuelven irritables; en algunos casos desarrollan un intenso picor que les hace rascarse intensamente. El animal acaba siempre muriendo por la enfermedad.

Para la comprensión de los temas de actualidad debemos tener claros unos conceptos básicos para el entendimiento de aspectos de nuestra vida, trabajo, y en este momento de la forma de producirse la enfermedad, a la que hace referencia el presente artículo.



Ovinos = 27 pares = 54 cromosomas.
 Bovinos = 30 pares = 60 cromosomas.
 Humanos = 23 pares = 46 cromosomas.

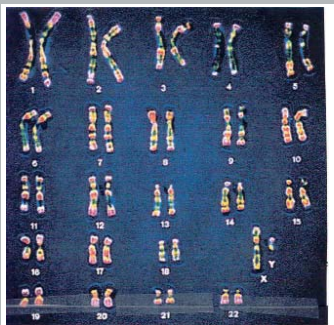


Figura 3: Cromosomas humanos de un varón.

GEN: Es un trozo del ADN responsable de la formación de una proteína que tendrá una función particular, y en general, en una misma especie, un gen ocupa siempre el mismo sitio. (Fig 4).

Se sabe que dentro del gen hay unas subunidades llamadas **codones** y cada codón es el responsable de la formación de una parte de la proteína (Aminoácidos).

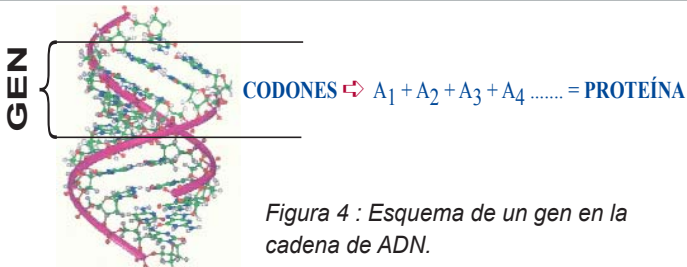


Figura 4 : Esquema de un gen en la cadena de ADN.

HISTORIA DEL DESCUBRIMIENTO DE LAS PROTEINAS INFECCIOSAS

En 1972 el Dr. Stanley B. Prusiner, especialista en neurología, empezó a estudiar las EET's. Se pensaba que estas infecciones estaban producidas por virus de acción lenta. El animal elegido para sus investigaciones fue la oveja afectada de scrapie.

Y, en 1982, Prusiner estableció una teoría que produjo gran escepticismo en la comunidad científica, por lo novedosa, y que establecía un nuevo agente infeccioso, ni virus, ni bacterias, ni parásitos, ni hongos, sino simples proteínas.

Finalmente, la hipótesis propuesta por Prusiner, conocida como Teoría del Prión, fue aceptada.

Un prión *es una partícula protéica infecciosa, que resiste la destrucción con nucleasas, radiaciones ionizantes, ultravioletas, proteasas, etc....*



ESTUDIO DEL GENOMA: Conocimiento de la secuencia del ADN. Conocimiento de la situación y función de cada uno de los genes de un individuo. Hace poco ha saltado a la prensa que se ha desentrañado el genoma humano, compuesto por 30.000 genes.

En los ovinos, se conoce que a nivel del cromosoma 13, se encuentra el gen (PrP) responsable de la formación de la proteína prión **PrP^C**. Se cree que la función que tiene es el transporte de metales pesados a nivel de membrana celular en el cerebro. Cuando ha hecho su función es eliminada por medio de unas proteasas K, y el animal está sano con respecto a la función que le corresponde a la proteína anteriormente citada (**PrP^C**).

Esto quiere decir que en los individuos de forma natural existe la proteína prión celular (**PrP^C**) que la forma el gen PrP, y que esa proteína desarrolla su actividad en células del cerebro.

Gen PrP → proteína prión **PrP^C** → acción en neuronas → **ANIMAL SANO**

scrapie cómo se produce

1 ¿CÓMO ACTÚA UNA PARTÍCULA PROTÉICA INFECCIOSA PrP^{Sc}? (LLAMADA ASÍ SC POR SUS INVESTIGACIONES CON OVEJAS CON SCRAPIE).

La proteína prión scrapie (PrP^{Sc}) tiene que "engañar" a la proteína prión celular normal (PrP^C) cuya función hemos explicado anteriormente; esto es, la proteína "mala" (PrP^{Sc}) le hace a la "buena" (PrP^C) que se convierta en "mala".

Lo curioso del caso es que se inicia una reacción en cadena de tal forma que las proteínas recién transformadas a "malas" inducen al cambio a las normales y así sucesivamente.

La forma anómala PrP^{Sc} tiene capacidad de infectar a la proteína prión normal PrP^C y hacer que ésta ya infectada produzca el mismo efecto en las que la rodean, de modo que se va propagando la PrP^{Sc}. (Fig 5)

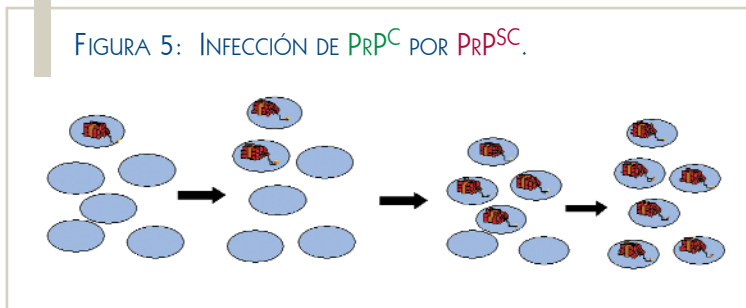


FIGURA 5: INFECCIÓN DE PrP^C POR PrP^{Sc}.

Para que un individuo se vea afectado por la enfermedad, scrapie en este caso, deben cumplirse las siguientes condiciones (Badiola 2002):

- 1º.- Contacto con la proteína patológica (PrP^{Sc}) como para producir la infección.
- 2º.- Tiene que haber proteína normal (PrP^C) para que se transforme en proteína patológica (PrP^{Sc}).

2 ¿QUÉ LE PASA AL INDIVIDUO CUANDO TIENE YA EN LAS CÉLULAS DE SU CEREBRO LA PrP^{Sc} EN VEZ DE LA PrP^C?

La proteína "mala" no se elimina, porque no es reconocida por la sustancia encargada de su eliminación, estalla el interior de la célula y ésta muere. Conforme las células mueren se van creando agujeros en el cerebro (agujeros que recuerdan a los de una esponja).

En esta situación el animal tiene todos los síntomas anteriormente descritos: picor, aturdimiento, etc, y siempre acaba muriendo.

Ya sabemos cuáles son las consecuencias de que la proteína infecciosa engañe a la proteína normal, pero ¿cómo se deja engañar?.

Anteriormente se ha citado que las proteínas son un conjunto de aminoácidos, cada aminoácido es un eslabón de la cadena.

$$\text{PROTEINA} = A1 + A2 + A3 + A4 + \dots + A_n$$

Esta suma de aminoácidos lleva una secuencia ordenada formando así una proteína determinada. En el caso que nos ocupa la PrP^C.

La proteína no es una estructura en línea recta sino que se pliega y forma hélices o bucles formando una estructura tridimensional. (Fig 6).

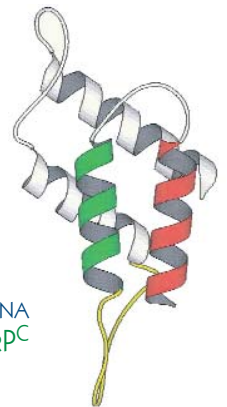


FIGURA 6: PROTEÍNA PRIÓN CELULAR: PrP^C

La proteína infecciosa PrP^{Sc} tiene la misma secuencia ordenada de aminoácidos que la normal PERO en determinados puntos de la cadena se pliega y forma hélices diferentes; y la proteína prión infecciosa induce a un cambio en la conformación de la que tiene la forma normal. (Fig 7).

El símil sería como si la proteína normal PrP^C creyera verse reflejada en un espejo y adoptara la forma exacta de lo que ve, iniciándose así la reacción en cadena anteriormente descrita.

reconocidos sus descubrimientos con el [Premio Nobel de Medicina en el año 1997](#).

En la actualidad se da por hecho que los priones existen y que son elementos patógenos diferentes a los conocidos hasta ahora. Las investigaciones continúan y es una vía más en el estudio de otras enfermedades que a día de hoy no tienen explicación.

También hay detractores en la comunidad científica que trabajan en otras vías de investigación y no dan por válida la teoría de las proteínas infecciosas.

Por estos motivos, es importante indicar que todo lo descrito en este artículo es lo que mayoritariamente se reconoce hoy en día como cierto. Ha supuesto una revolución en los conceptos científicos manejados hasta el momento. Las investigaciones continúan y lo válido en el año 2004 puede que no lo sea en el año próximo.

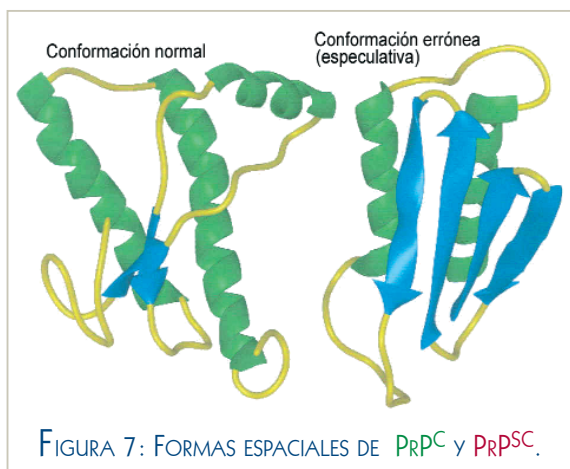


FIGURA 7: FORMAS ESPACIALES DE PrP^C y PrP^{Sc}.

Todos estos descubrimientos han hecho que la teoría lanzada por Prusiner y su equipo, que inicialmente no fue creída por la comunidad científica, actualmente se considere válida y que Prusiner viera

resistencia

Resistencia genética al scrapie

Según las investigaciones (Badiola 2002), para que un individuo se vea afectado por SCRAPIE debe tener contacto con la proteína patológica PrP^{Sc}. En el caso de la infección por scrapie el mayor riesgo se produce en el momento del parto por la ingesta de la placenta de un animal enfermo (aunque no tenga síntomas) por otro sano.

Se cree que en nuestro país, la posible causa de los focos de scrapie fuera la importación en los años 60 y 70 de animales procedentes de países afectados por la enfermedad (Suffolk, Romanov, Île de France, Texel,)

Ahora bien, en un rebaño ante el contacto con la proteína infectante PrP^{Sc} no todos los animales enferman por igual, DEPENDE DE CADA INDIVIDUO. Veamos cómo.

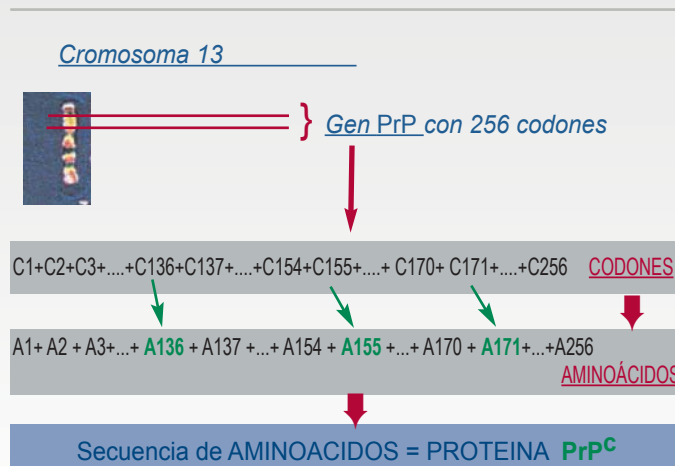
Hemos dicho anteriormente que la proteína infecciosa "engaña" a la proteína normal PrP^C y le hace plegarse de otra forma, pero estos plegamientos anormales sólo se producen en determinados eslabones (aminoácidos) de la cadena proteínica normal PrP^C.

Igualmente hemos comentado que el gen responsable de la producción de la proteína normal PrP^C, tiene unas subunidades, los codones, y cada uno de ellos es el responsable de la producción de un aminoácido o eslabón de la cadena proteínica.

Se ha concluido que los aminoácidos que se forman de los codones 136, 154 y 171 son los que van a permitir que la proteína normal PrP^C se deje "engañar" antes o después por la proteína infecciosa PrP^{Sc}.

En los ovinos, la proteína PrP^C tiene 256 aminoácidos (eslabones de la cadena) por lo que el gen estará compuesto por 256 codones (cada codón es el responsable de la producción de un aminoácido). (Fig 8).

FIGURA 8: FORMACIÓN DE LA PROTEÍNA PRIÓN PrP^C.



resistencia genética

Se sabe que los aminoácidos (136, 154 y 171) que se forman de sus codones correspondientes son los que van a permitir que la proteína normal PrP^C se deje "engañar" más deprisa o más lentamente por la proteína infecciosa PrP^{Sc}.

Los aminoácidos "clave" por los que la proteína normal PrP^C se va dejar o no plegar de manera diferente son los siguientes.

Encontraremos como aminoácidos posibles:

AMINOACIDOS POSIBLES	
En la posición 136	ALANINA (A) O VALINA (V)
AMINOACIDOS POSIBLES	
En la posición 154	ARGININA (R) O HISTIDINA (H)
AMINOACIDOS POSIBLES	
En la posición 171	ARGININA (R) O HISTIDINA (H) O GLUTAMINA (Q)

En vez de escribir sus nombres propios se utilizan unas letras, y de ahora en adelante nos referiremos a dichos aminoácidos unicamente por ellas:

A: ALANINA, **R:** ARGININA, **H:** HISTIDINA, **Q:** GLUTAMINA, **V:** VALINA

Cada una de las combinaciones posibles corresponde a una manifestación del gen (se denomina alelo).

En teoría hay muchas combinaciones, pero no se dan todas. Las más frecuentes son:

	136	154	171	GRADO DE RESISTENCIA	
AMINOÁCIDOS	A	R	R	Resistente	más + ↓
	A	H	Q		
	A	R	H	Hipersensible	menos ↓ -
	A	R	Q		
	V	R	Q		

Cabe recordar que esto es lo que pasa en un gen del cromosoma 13, pero los individuos en las células tienen 2 ejemplares (uno proveniente de la madre y otro del padre). (Fig 9)

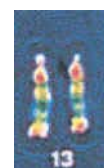


FIGURA 9: PAR 13 DE CROMOSOMAS

Así que con respecto al gen responsable de la Proteína PrP^C los animales pueden ser las siguientes:

NIVELES DE RESISTENCIA GENÉTICA A SCRAPIE.		
GRUPO	GENOTIPO	RIESGO DEL INDIVIDUO
R1	ARR/ARR	Muy bajo riesgo
R2	ARR/AHQ AHQ/AHQ	Bajo riesgo
R3	ARR/ARQ ARR/ARH ARQ/AHQ AHQ/ARH	Bajo riesgo
R4	ARH/ARH ARQ/ARH ARQ/ARQ ARR/VRQ AHQ/VRQ	Riesgo de Scrapie ocasional
R5	ARQ/VRQ ARH/VRQ VRQ/VRQ	Alto riesgo

El **GENOTIPO DEL INDIVIDUO** queda expresado por los aminoácidos que generan los codones 136, 154 y 171 de los dos genes de la pareja 13 de cromosomas, y que nos va a dar idea de la resistencia del individuo a padecer scrapie.



Tras lo explicado se está en condiciones de entender **otra definición de SCRAPIE y de la resistencia de los animales a la misma.**

"Se caracteriza por la acumulación de la proteína príon PrP^{Sc} que es la forma patógena de la proteína celular PrP^C, la cual se encuentra codificada por el gen de la proteína príon PrP.

Se ha comprobado que la resistencia de las ovejas al scrapie está modulada por variaciones alélicas en ese gen PrP, en concreto en los codones 136, 154 y 171 del mismo".

El genotipo de una oveja nos va a dar idea de su resistencia a padecer la enfermedad de scrapie, por lo menos durante una vida reproductiva normal, **si el animal tiene contacto con el príon** (proteína infectante).

En un informe realizado en Julio de 1999, por los servicios veterinarios ovinos (DSV), en Francia, en colaboración con estructuras técnicas ovinas, (INRA, CDEO, ENV) dan como referencia los siguientes datos para animales puestos en contacto con priones infectantes.

GENOTIPO	MORTALIDAD/MORBILIDAD
ARR/ARR	0 % mortalidad
ARR/AHQ	0 % mortalidad
ARR/ARQ	0-4 % mortalidad
ARR/VRQ	0-4 % mortalidad
ARQ/ARQ	19-35 % mortalidad y duración media del período de incubación de 2,7 años.
ARQ/VRQ	33-43 % mortalidad y duración media del período de incubación de 2,3 años.

Como toda línea de trabajo, ésta tiene sus detractores y no dejan de salir artículos preguntando si el no padecer la enfermedad es sinónimo de no presentar síntomas pero sí eliminar priones. **No hay nada concluyente** pero la tesis más generalizada es que a mayor resistencia genética hay menos eliminación de priones al "aguantar" la proteína normal PrP^C del individuo sin convertirse en proteína infecciosa PrP^{Sc} durante más tiempo. De tal forma que una oveja ARR/ARR a lo largo de su vida reproductiva (8-9 años) habrá mantenido a "raya" a los priones infecciosos y no enfermará, ni eliminará priones.

Y un rebaño será más resistente a la enfermedad cuantos más individuos tenga con genotipo ARR por lo menos en uno de sus alelos y no teniendo individuos con VRQ en ninguno de sus alelos.

scrapie

PROGRAMA DE CRÍA DE OVINOS RESISTENTES A E.E.T.'s



De la existencia del ADN ya nadie duda, y aunque no sucede lo mismo con la existencia de los priones, nosotros, técnicos de campo que junto con los ganaderos somos el último peldaño de esta escalera, no tenemos datos para opinar sobre la existencia o no de las proteínas infectantes. Sin embargo, somos los encargados de ejecutar las directrices que se marcan desde diferentes estamentos con el asesoramiento de sus respectivas comisiones científicas y técnicas.

Así el 13 de Febrero de 2003, la Comisión Europea fijó los requisitos mínimos para el establecimiento de programas de cría de ovinos resistentes a las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET's).

En la actualidad se está esperando la publicación de un Real Decreto en el que se fijen los requisitos para el mismo programa en nuestro país.

El **objetivo del programa** será *"aumentar la frecuencia del alelo ARR en los rebaños de ovino y reducir al mismo tiempo la prevalencia de aquellos alelos de los que se ha demostrado que contribuyen a la susceptibilidad de contraer E.E.T."*

La velocidad a la que se puede cumplir el objetivo anteriormente citado va a depender del nivel de resistencia inicial de cada raza y el problema real que suponga la enfermedad en cada raza y en cada país.

En la Decisión de la Comisión Europea se propone la **calificación y certificación de los rebaños en función de su situación en cuanto a RESISTENCIA GENÉTICA A EET's.**



OBJETIVO DEL PROGRAMA DE CRÍA DE OVINOS RESISTENTES A EET's

Como rebaño RESISTENTE será considerado:

A.- Rebaño de nivel I: formados en su totalidad por ovinos de genotipo ARR/ARR.

B.- Rebaño de nivel II: rebaño cuya progenie haya sido procreada exclusivamente por carneros de genotipo ARR/ARR.

La Comisión faculta a cada Estado miembro la instauración de otros niveles inferiores de resistencia y la aplicación de un plan individualizado para cada raza en función de su situación inicial.

Así y para conocer la situación de las razas ovinas españolas en lo que respecta a su resistencia a scrapie, durante el año 2003 se ha procedido al genotipado de una muestra de todas las razas autóctonas presentes en el Estado Español.

El estudio se ha realizado comenzando por el genotipado de machos, en animales reproductores de más de 6 meses.

Con el resultado de dicho genotipado y a lo largo de 2004 para cada raza se tendrá que proponer un plan con el fin de aumentar la frecuencia del alelo ARR en los rebaños.

genotipado

Genotipado de animales

Se ha explicado qué es y para qué sirve el genotipado de los animales; ahora vamos a explicar cómo se hace a nivel de campo.

En principio simplemente es una técnica que permite extraer el ADN y en la práctica, tal como se ve en las películas, se puede extraer ADN de cualquier muestra: de piel, lana, sangre, semen.....

En el caso que nos ocupa, la muestra en el laboratorio más sencilla de manejar es la sangre con un anti-coagulante (EDTA).

Correlación del número IDEO (Identificación Electrónica Ovina) con el número de crotal que tiene el animal en la base de datos correspondiente al Libro Genealógico. (Imagen 4).

2º.- Toma de muestras de sangre por punción en la vena yugular. Los tubos son numerados con el objetivo de disponer de un marcaje inequívoco para cada muestra. (Imágenes 5 y 6).

EL PROCESO ES EL SIGUIENTE:

1º.- Identificación de los animales mediante BOLO RUMINAL con dispositivo electrónico.
(Imágenes 1, 2, y 3).



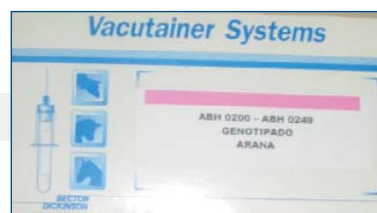
Imagen 1: Aplicador bolo cordero.



Imagen 2: Aplicador bolo adulto.



Imagen 3: Bolo cordero (izda.), Bolo adulto (dcha).



Imágenes 5 y 6: Material específico para el genotipado.

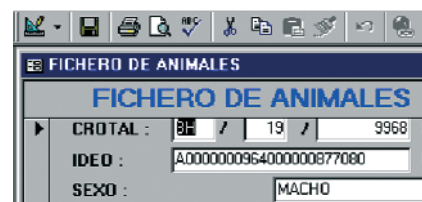


Imagen 4: Identificación animal.

3º.- Envío de muestras refrigeradas y análisis de las mismas, en el Laboratorio Nacional de Referencia para genotipado de ovino de Algete (Madrid).

4º.- Captación de los resultados del genotipado desde la web del M.A.P.A. a la base de datos donde está la información de cada animal identificado. (Imag 7).

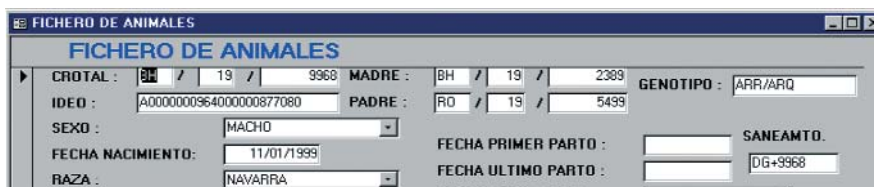


Imagen 7: Resultado genotipo.

Siempre en la carta genealógica deberá figurar el genotipo de los animales.

Como se ha citado anteriormente, en la actualidad, se está pendiente de la publicación en nuestro país del Real Decreto donde se regulen los niveles de calificación de los rebaños y los puntos para el establecimiento de programas de selección de animales resistente a las E.E.T.'s.

Por el momento se han visto afectados los animales que o bien vayan a subastas públicas o aquellos animales destinados para vida en exportaciones intracomunitarias. De manera que:

1.- Para todo **morueco** objeto de subvención por compra, los genotipos permitidos son:

R1	ARR/ARR
R2	ARR/AHQ AHQ/AHQ
R3	ARR/ARQ ARR/ARH ARQ/AHQ AHQ/ARH

2.- Para toda **hembra** objeto de subvención, los genotipos permitidos son:

R1	ARR/ARR
R2	ARR/AHQ AHQ/AHQ
R3	ARR/ARQ ARR/ARH ARQ/AHQ AHQ/ARH
R4	ARH/ARH ARQ/ARH

3.- En exportaciones intracomunitarias para vida, el único genotipo permitido es ARR/ARR.

Cabe recordar, otra vez, que muchos de los asuntos tratados a lo largo de este artículo son de reciente descubrimiento y que muchos de sus aspectos se siguen investigando por lo que a corto-medio plazo no podemos adivinar cómo evolucionará todo. Lo que sí podemos afirmar es que:

- Un animal sensible o hipersensible genéticamente al SCRAPIE no enfermará si no tiene contacto con el PRIÓN infectante, así que **la PREVENCIÓN de la infección es la mejor arma en manos del ganadero**. Resulta fundamental cuidar aspectos como:

- 1.- Retirada de las placentas del aprisco en el momento del parto.
- 2.- No comprar animales de países donde el scrapie es un problema grave.
- 3.- Si se compran animales para vida, hacerlo cumpliendo la legislación vigente.

- Y por otro lado, el **control por parte de los Organismos competentes**, de la estricta legislación en cuanto a prohibición del uso de harinas de origen animal en la alimentación ovina.

En adelante, además de la prevención (importantísima y fundamental) se utilizará, junto con los criterios tenidos en cuenta hasta ahora para dejar animales para vida, otro más; el de tener cierto nivel de resistencia genética a las EET's, con el objetivo de tener poco a poco más animales en la banda superior de resistencia. (Ver tabla de "Niveles de resistencia a scrapie").