

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

J. Altarriba*, C. Moreno*, C. Díaz**, M. Serrano**

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

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

Correo electrónico: altarrib@unizar.es

RESUMEN

Se estiman, mediante procedimientos de simulación, las consecuencias de la selección para resistencia genética a scrapie sobre el genoma en desequilibrio gamético con el gen PRNP, evaluándose separadamente los cambios medios esperados en el cromosoma 13 y en el resto. Se observa que los efectos indirectos inducidos por la selección a favor del alelo ARR pueden ser importantes a lo largo de todo el genoma, especialmente en el entorno del locus PRNP, y mayor cuanto más rápida y radical sea la selección ejercida y más baja la frecuencia inicial de ARR. Estos resultados permiten recomendar selecciones de baja intensidad en el intento de favorecer un presunto efecto terapéutico de ARR con la mínima reorganización del genoma. En caso contrario, deben esperarse cambios importantes en la estructura genética de las poblaciones en caracteres de todo tipo con dirección y magnitud impredecibles.

Palabras clave: Scrapie, selección, efecto autostop, gen PRNP

SUMMARY

CONSEQUENCES OF THE SELECTION FOR GENETIC RESISTANCE TO THE SCRAPIE ON THE GENOME IN GAMETIC DISEQUILIBRIUM WITH THE PRNP GENE

The consequences of the selection for genetic resistance to Scrapie, on the portion of the genome that is in gametic disequilibrium with the PRNP gene, are estimated by means of simulation procedures, with separated evaluations of the expected average changes in the chromosome 13 and in the rest. It is observed that the indirect effects induced by the selection favourable to ARR allele can be important along the whole genome, especially around the PRNP locus, and larger the quicker and more radical the selection is and the lower the initial frequency of ARR is as well. These results allow to advise selections with low intensity for favouring a presumptive therapeutic effect of ARR with the minimum genomic reorganization. Otherwise, important changes should be expected in the genetic structure of the populations in all type of traits with unpredicted direction and magnitude.

Key words: Scrapie, selection, hitchhiking effect, PRNP gene

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 figura 1 se muestran los valores máximos posibles del desequilibrio gamético (D_{max}) con las frecuencias génicas asumidas en los distintos pares de loci. El gen $Prnp$ está representado por los valores del alelo $p(ARR)_0 = 0,20$ 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 D_{max} 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.

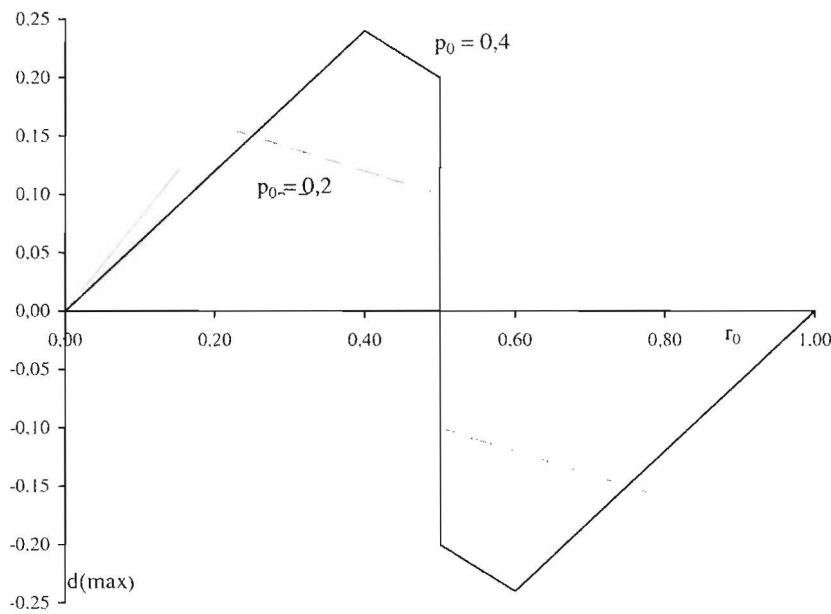


Figura 1. Desequilibrio máximo entre el locus $Prnp$ con $p(ARR)_0 = 0,20 - 0,40$ y el resto del genoma, en función de las frecuencias génicas r_0 .
Figure 1. Maximum disequilibrium among the $Prnp$ locus with $p(ARR)_0 = 0.20 - 0.40$ and the rest of the genome, in function of the gene frequencies r_0 .

En la figura 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.

En la figura 3 se muestra el cambio de las frecuencias alélicas r , en idéntica situación a 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 cro-

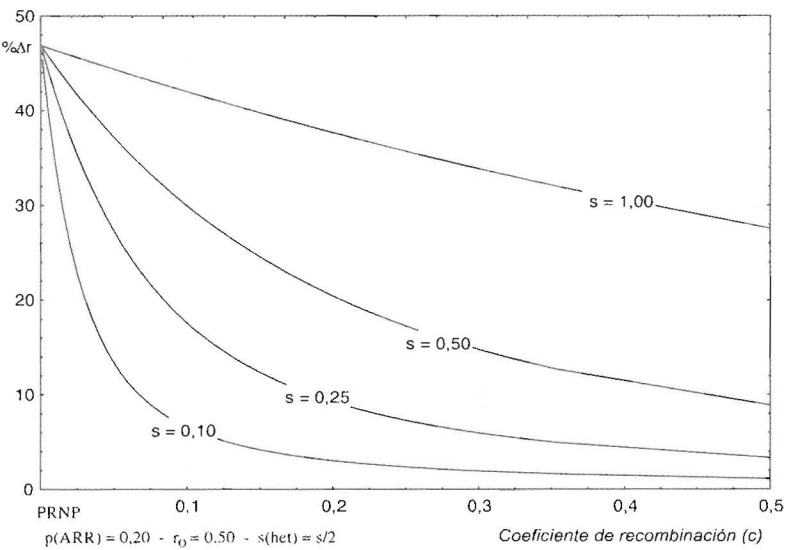


Figura 2. Cambio ($\% \Delta r$) de las frecuencias génicas de loci ligados a *Prnp* según el coeficiente de recombinación entre ambos.
 Figure 2. Change ($\% \Delta r$) of the gene frequencies of linked loci to *Prnp* according the recombination frequency.

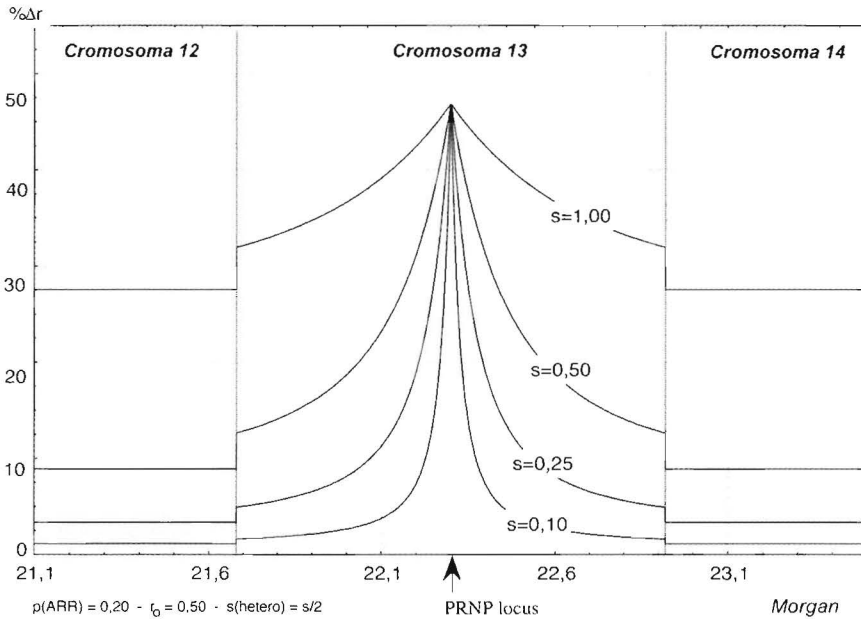


Figura 3. Cambio (%Δr) de las frecuencias génicas de loci ligados a Prnp según la distancia de mapa entre ambos.

Figure 3. Change (%Δr) of the gene frequencies of linked loci to Prnp according the map distance.

mosoma 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 figuras 4 y 5 se muestran los cambios medios generados con $p(ARR)_0 = 0,2$, 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 figuras 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

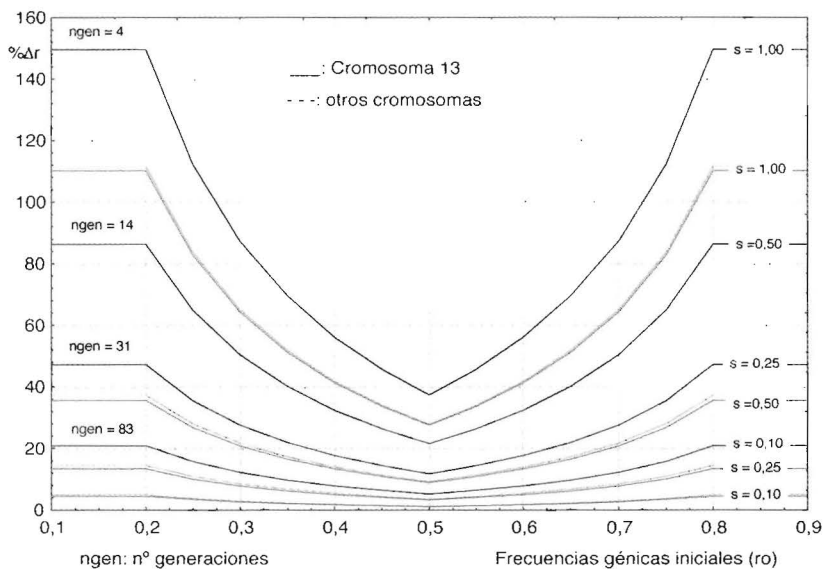


Figura 4. $\% \Delta r$ medio en Cr. 13 y el resto de los cromosomas según la frecuencia génica inicial, con $p_0 = 0,2$ y $s(het) = s/2$.
Figure 4. Average $\% \Delta r$ in chromosome 13 and in the rest, according the initial gene frequency, $p_0 = 0,2$ and $s(het) = s/2$.

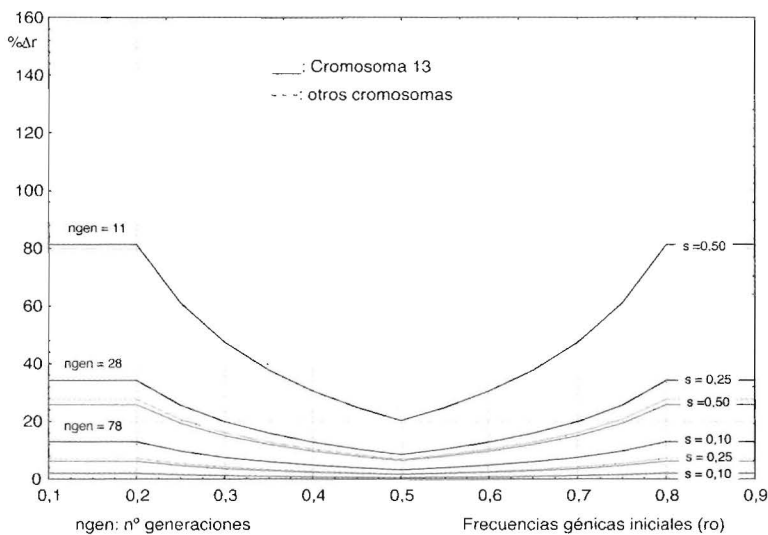


Figura 5. $\% \Delta r$ medio en Cr. 13 y el resto de los cromosomas según la frecuencia génica inicial, con $p_0 = 0,2$ y $s(het) = s$.
Figure 5. Average $\% \Delta r$ in chromosome 13 and in the rest, according the initial gene frequency, $p_0 = 0,2$ and $s(het) = s$.

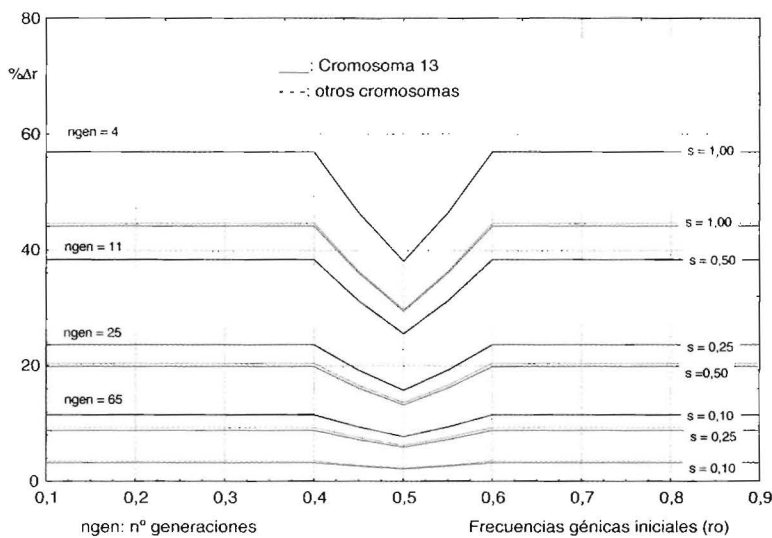


Figura 6. $\% \Delta r$ medio en Cr. 13 y el resto de los cromosomas según la frecuencia génica inicial, con $p_0 = 0,4$ y $s(het) = s/2$.
Figure 6. Average $\% \Delta r$ in chromosome 13 and in the rest, according the initial gene frequency, $p_0 = 0,4$ and $s(het) = s/2$.

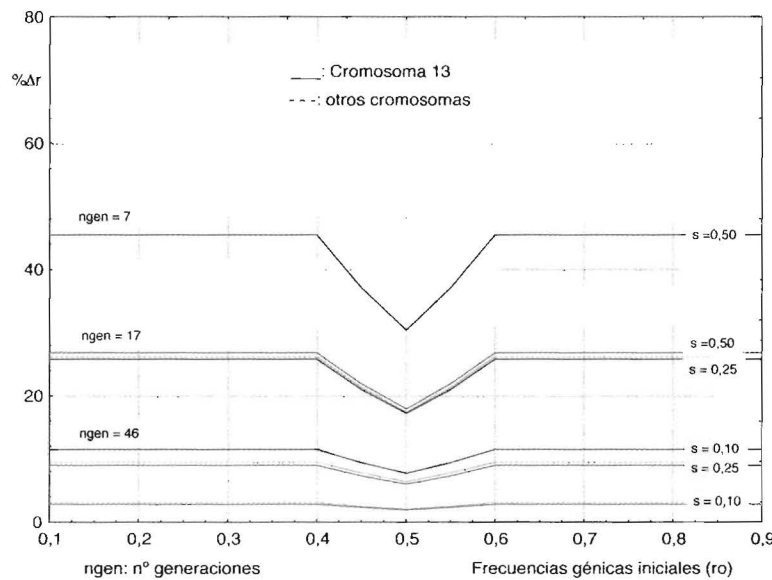


Figura 7. $\% \Delta r$ medio en Cr. 13 y el resto de los cromosomas según la frecuencia génica inicial, con $p_0 = 0,4$ y $s(het) = s$.
Figure 7. Average $\% \Delta r$ in chromosome 13 and in the rest, according the initial gene frequency, $p_0 = 0,4$ and $s(het) = s$

menos tiempo al ser las frecuencias iniciales y finales simuladas más próximas.

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 innecesaria.

Agradecimientos

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

Bibliografía

- ACÍN C., MARTÍN-BURRIEL I., LYAHYAI J., MONLEÓN E., RODELLAR C., BADIOLA J.J., 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 B.G.M., MUILEMAN I.H., SCHREUDER B.E.C., BOS-DE RUIJTER J., GIELKENS A.L.K., SMITS M.A., 1995. Identification of five allelic variants of the sheep PrP gene and their association with natural scrapie. *Journal of General Virology* 76, 509-517.
- CASIGLIONI 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 L.J., HOSIE B.D., 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 J.M., AMIGUES Y., SCHELCHER F., DUCROCQ V., ANDREOLETTI O., EYCHENNE F., TIEN KHANG J.V., POIVEY J.P., LANTIER F., LAPLANCHE J.L., 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 J.D., GOLDMAN W., STEAR M.J., 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 B.D., DINGWALL W.S., 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., MONTEAGUDO L.V., ARRUGA M.V., 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 R.A., 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 H.M., GEORGSSON G., PALSDOTTIR A., 1999. PrP gene polymorphism and natural scrapie in Icelandic sheep. *Journal of General Virology* 80, 2527-2534.