

Alteraciones cromosómicas en el caballo Sangre Pura de Carreras

Lic. En Genética, Estévez Daniela¹³, Ing. Zoot. MSc. Paz Sergio², Ing. Zoot. Dr. Genero Enrique¹³

1. Cátedra Mejora y Conservación de Recursos Genéticos. Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Lomas De Zamora

2 Cátedra Equinotecnia. Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Lomas De Zamora

3 IIPAAS: Instituto de Investigación sobre Producción Agropecuaria, Ambiente y Salud.

En la producción equina, la raza Sangre Pura de Carreras impide por reglamento expresamente la utilización de cualquier método de fertilización asistida.¹ De este modo, ante la utilización de métodos reproductivos basados en mecanismos naturales existen múltiples factores que pueden impedir el éxito en la concepción. Algunos han sido debidamente abordados y documentados, como ser las enfermedades de origen bacteriana o viral, sean venéreas o no. Otras pueden relacionarse a patologías originadas en anomalías anatómicas o fisiológicas de los distintos órganos reproductivos masculinos o femeninos. Por ejemplo, es común encontrar en las yeguas alteraciones en los ovarios, en el oviducto, en el útero o en la regularidad el ciclo Estral ; mientras que para los machos es frecuente detectar alteraciones en la producción espermática debida a Orquitis o Vesiculitis Seminal. Incluso existen otras enfermedades como la Neoplasias o la Azoospermia que deben ser consideradas dentro de las causas comunes de las fallas en eficiencia reproductiva.² Sin embargo, existen otras causas de base genética que han sido poco estudiadas hasta la

actualidad, como la presencia de alteraciones cromosómicas estructurales y/o numéricas, las cuales aumentan su frecuencia de aparición en especies con una reproducción que se acerca a la endogámica.³ Este tipo de aberraciones cromosómicas pueden/podrían detectarse en los caballos Sangre Pura de carrera debido a que, para preservar la raza, no se introduce material genético externo.

El mayor impulso para la investigación citogenética equina vino de los veterinarios y los propietarios de caballos Preocupados por los reproductores infértiles o subfértiles.

Las habilidades clínicas de los veterinarios y el deseo de los criadores de determinar la base genética subyacente de los problemas de fertilidad condujeron al descubrimiento de diversos problemas citogenéticos.⁴

La citogenética es la disciplina que estudia la constitución cromosómica de las especies, determinando el número y la morfología de los cromosomas³. El cariotipo normal de un caballo está constituido por $2n=64$,

62 Autosomas y 2 cromosomas sexuales. (Fig. 1). Cualquier cambio en el número y/o morfología del complemento cromosómico es reconocido como alteraciones cromosómicas. Algunos de los ejemplos más citados en la bibliografía hacen referencia a: 1) alteraciones numéricas como Monosomías, Trisomías e Intersexualidad, 2) alteraciones estructurales como Inversiones, Deleciones y Traslocaciones (como. Además del Mosaiquismo, que es la presencia de más de una línea celular. y el caso particular conocido como Sexo reverso, en donde una hembra presenta un cariotipo perteneciente al de un macho, es decir que posee la conformación XY en sus cromosomas sexuales.⁵

Este tipo de alteraciones ocurren durante la Mitosis, Meiosis o en el proceso de fecundación produciendo en algunos casos un desarrollo anormal del individuo, sub fertilidad o incluso infertilidad completa dependiendo de si el tipo de alteración es numérica, estructural y si implican a los cromosomas sexuales o a los autosomas.³

Para poder diagnosticar citogenéticamente a este tipo de alteraciones, solo se requiere de una muestra de sangre periférica del animal que se encuentre debidamente conservada para evitar la coagulación del material.

Una vez obtenida la muestra, se llevan a cabo una serie de técnicas que consisten principalmente en el cultivo de Linfocitos para la obtención de las Metafasas y su posterior fijación⁵ y tinción estándar y la aplicación de diferentes técnicas de bandeado, como ser Bando G, Bando

C, Bando NOR, FISH o GISH, o las que se requieran según el caso del individuo a analizar para detectar aberraciones.

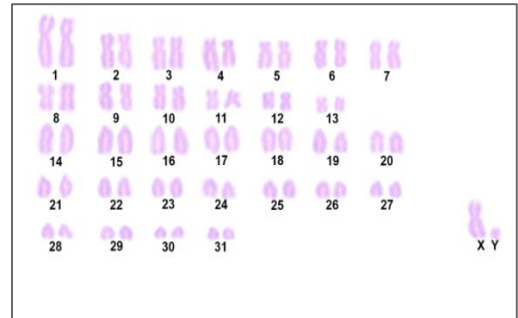


Fig. 1: Cariotipo normal de caballo macho, *Equis Caballus* 2n:64.

Hasta el 2007 se desconocía la frecuencia de estas alteraciones en los equinos describiéndose solamente la casuística, Pero ese mismo año, Bugno y colaboradores presentaron un trabajo realizado en Polonia sobre una población de equinos. Determinando que el 2% de una población de 500 animales presentaba una alteración cromosómica⁶. Sin embargo en nuestro país esta dato es desconocido por la falta de investigaciones al respecto y al no estar consideradas dentro de los diagnósticos de rutina, las mismas no son asociadas a los problemas reproductivos en los animales de carreras.

Para poder tener más conocimiento del tema, a continuación se detallan algunos ejemplos de las alteraciones cromosómicas anteriormente citadas.

Monosomías y Mosaiquismo

La monosomía X, también conocido como hembra XO o síndrome de Turner equina; $2n= 63, X$ (Fig. 2) y sus formas de mosaico ($63, X / 64, XX$; $63, X / 64, XX / 65, XXX$) fueron algunas de las primeras anomalías cromosómicas descritas en los caballos.⁷ En comparación, Alrededor del 3% de todas las concepciones producidas en los seres humanos presentan monosomía X, pero el 99 % se pierden en abortos espontáneos o muerte fetal. El porcentaje de las concepciones y la tasa de supervivencia para embriones con monosomías X en el caballo son desconocidos. Al igual que en los seres humanos, los estudios del origen paterno del cromosoma X en monosomía equina han determinado que el cromosoma X es casi siempre de origen materno. Por otra parte la presencia de anomalías cromosómicas como el mosaico $2n= 63, XO/64, XX$ (presencia de dos o más tipos de líneas celulares presentes en un organismo, de origen pre-cigótico o pos-cigótico), disminuye el desempeño reproductivo de yeguas fenotípicamente normales porque afecta el desarrollo del tracto reproductivo produciendo ovarios muy pequeños y/o quísticos, cuerpos lúteos persistentes, atrofia endometrial y/o flacidez cervical; lo cual se hace evidente por la presentación de ciclos estrales irregulares, anovulatorios o anestros prolongados⁸.

Tanto en el hombre como en el equino, el mosaicismo se le atribuye a un proceso llamado No-disyunción que puede afectar a los cromosomas autosómicos o a los sexuales. Esta No-disyunción se debe a fallas en la supervisión de los puntos que controlan la correcta segregación de

los cromosomas sexuales debido a un comportamiento univalente del cromosoma implicado.

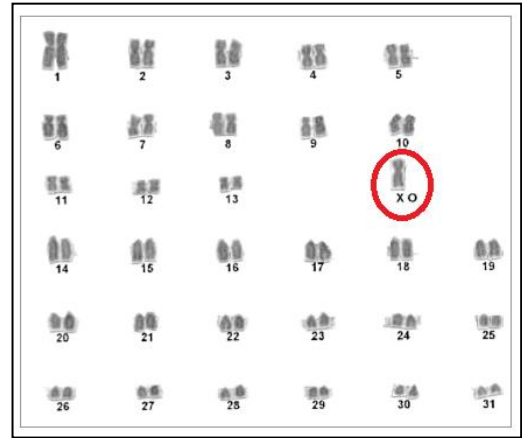


Fig.2: Cariotipo de caballo $2n= 63$. (Extraído de Monicaleano y col. 2007)⁹

Trisomías

Para los casos de trisomías en caballos pura sangre se realizaron estudios en 3 yeguas con $2n= 65, XXX$, que presentaban ovarios pequeños aparentemente inactivos y ciclo anormal¹⁰

Por otra parte se describió un caso de trisomía del par 28 en un potro cuyo análisis cariotípico reveló $2n= 65, XY + 28$. Es importante destacar que este caso de trisomía se compara con el síndrome de Down en humanos.¹¹ (Fig. 4)

Asimismo, también se encontró un potro de 1 año de edad, de la raza Standardbred, con graves defectos en el desarrollo. El análisis cariotípico reveló trisomía del par 23 con $2n= 65, XY+23$.¹²

Traslocaciones

La traslocación es un cambio estructural en el que algún segmento cromosómico cambia de posición relativa dentro del complemento cromosómico. Modificando los grupos de ligamiento.

Las traslocaciones pueden ser intracromosómicas, cuando un segmento cromosómico cambia de posición dentro del mismo cromosoma, intercromosómica cuando un segmento cromosómico pasa a un cromosoma no homólogo o Traslocación recíproca cuando el cambio de segmentos cromosómicos es mutuo entre dos cromosomas homólogos o no³. En este tipo de traslocación recíproca pueden aparecer nuevas constituciones cromosómicas generando individuos homocigotos estructurales que presentan un apareamiento normal o heterocigotos estructurales que se caracterizan por presentar un apareamiento cromosómico en forma de cruz y, dependiendo de la coorientación de los centrómeros en el apareamiento, estos cromosomas pueden llegar a producir gametos inviables³.

En caballos pura Sangre de Carrera se encontraron varios casos de traslocaciones, las más relevantes fueron una traslocación autosómica entre los pares cromosómicos 7 y 14¹³ en una yegua joven de baja talla. Una traslocación heterocigótica desbalanceada entre el cromosoma X y el cromosoma 15, con pérdida del brazo (p) del X; [64, X,-X,+ del. (X), t {Xp; 15q}]¹³. También se analizó a un potro pseudohermafrodita con una traslocación 2n= 63, X/64, X,-Y,+t (Yq, Yq)¹⁴. y una traslocación en una yegua pura sangre con fenotipo

normal, pero con abortos espontáneos, cuyo cariotipo era 2n= 64, XX, t (1; 21)¹⁵ (Fig. 3).

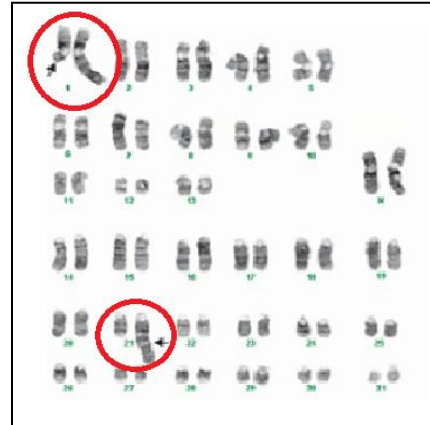


Fig. 3: Cariotipo de una Yegua pura sangre fenotípicamente normal con pérdida embrionaria temprana. En la imagen se observa i ndicado con la flecha una traslocación 2n: 64, XX. (Extraído de Halnan y Col. 1982)¹⁶

Deleciones

Consiste en la pérdida de un fragmento de ADN de un cromosoma. En caballos pura sangre se han reportado deleciones en un macho que presentaba una deleción terminal en el brazo largo del cromosoma 13, 2n= 64, XY, 13q¹⁷. También se realizaron estudios en 4 yeguas con una deleción en el brazo corto de uno de los cromosomas X, las cuales presentaban fenotípicamente una conformación pobre y baja estatura¹⁰. Por otra parte se describió una traslocación desequilibrada causando una pérdida de una porción de Xp [64, X, -X, + der (X), t (X; 15q)] en una yegua infértil con talla baja, con mala conformación y un modo de andar rígido¹⁸.

Inversiones

Las inversiones ocurren cuando un fragmento cromosómico cambia de sentido dentro del mismo cromosoma.³ Un caso de inversión fue descrito en una yegua pura sangre inglesa de 12 años infértil con ciclos estrales irregulares cuyo cariotipo era $2n=63XO$, inv. (X). En esta yegua no se podía identificar al cromosoma X normal pero aparecía un cromosoma subterminal pequeño, que podría haberse originado por una ruptura y rearreglo del cromosoma X durante la gametogénesis¹⁹.

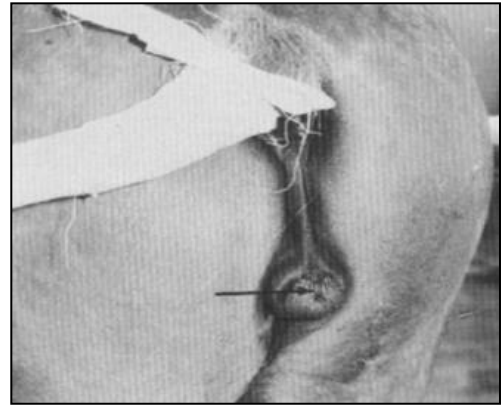


Fig. 4: Glándula del pene que emerge de la vulva rudimentaria. La flecha indica la apertura uretral. (Extraído de Teri y Col 2010)²⁰

Intersexualidad

Los animales intersexuales se pueden clasificar como hermafroditas verdaderos o pseudohermafroditas. En el primer caso, hay presente tanto tejido testicular como ovárico. En los pseudohermafroditas, sin embargo, está presente sólo un tipo de gónada, siendo clasificado al animal como macho o hembra.

Se encontró un ejemplo de intersexualidad en un potro con apariencia general de hembra pero en el que la distancia ano-genital era mucho mayor que lo esperado y que presentaba pliegues cutáneos que formaban una vulva y vagina rudimentaria desde donde se proyectaba una estructura similar, en apariencia, a un glándula del pene. En la laparotomía se localizaron dos testículos pequeños intra abdominales y tejido ovárico, pero no uterino. (Fig. 4).

El análisis citogenético de este animal demostró la existencia de dos líneas celulares, una normal con $2n=64XX$ y una línea $2n=65XXY$. (Fig. 5)¹⁹

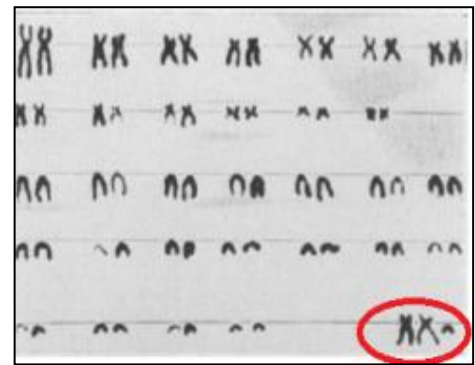


Fig. 5 Metafase con cariotipo $2n: 65XXY$. (Extraído de Teri y Col 2010)²⁰

Sexo reverso

Se define sexo reverso como individuos que fenotípicamente son "yeguas" pero que son cromosómicamente machos. Es decir que el análisis citogenético pone en evidencia el sexo cromosómico el cual no se corresponde con el sexo fenotípico del animal. Mientras que el cariotipo explica anomalías de las yeguas XY, no revela por qué estos

caballos no se desarrollaron como machos a pesar de que tienen un cromosoma Y. en este contexto, interviene la genética molecular que nos permite detectar que las Yeguas XY estudiadas carecen de una gran región cromosómica que incluye a un gen llamado SRY, que es esencial en el desarrollo de los mamíferos machos.²¹.

Consideraciones finales

Debido a las innumerables problemáticas citadas en este texto, actualmente nos encontramos realizando los estudios citogenéticos correspondientes, en el laboratorio de Biotecnología Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora, con la finalidad de determinar, en primera medida, el tipo de alteración que posean los animales estudiados. Así, Una vez identificada la misma, y conociendo el efecto que produce, (con esto nos referimos a si se trata de sub fertilidad o esterilidad completa) se establecerá el programa de trabajo que permita realizar un apropiado manejo genético de los individuos y evitar la diseminación de algunas alteraciones cromosómicas en las mandas incluyendo esta información en los planes de mejora genética.

Bibliografía

1. <http://www.studbook.com.ar/>
2. Ramírez B, Ginés F, (2005). Manual de Semiología Clínica Veterinaria. Manizales Colombia Edit. Universidad de Caldas Ciencias Agropecuarias
3. Lacadena JR (1996). Citogenética. España. Edit. Complutense
4. Lear TL, Bailey E (2008). Equine clinical cytogenetics: the past and future. Cytogenetic and genome research
5. De Grouchy J, Roubin and Passage (1964). Microtechnique pour l' etude des chromosomes humains a partir d'une culture de leucocytes sanguins . *Animals. Genetics'*. 7:45 46.
6. Bugno, Slota, Koscielny - Schweizer Archiv für Tierheilkunde, (2007) Karyotype evaluation among young horse populations in Poland. Cytogenetic and genome research .
7. Power MM (1990). Chromosomes of the horse. *Advances in Veterinary Science and comparative medicine*. 34: 131-167.
8. Cribiu EP (1975). Variation interraciale de la taille du chromosome Y chez Bos taurus. *Ann. Génétics. Selection. Animals*. 7(2): 139-144
9. Moncaleano JS, Jiménez LM, and Sánchez CA (2007). Mosaicismo leucocitario asociado a infertilidad en cuatro yeguas. *Orinoquia*, 11(1), 87-91.
10. Chandley AC, Fletcher J, Rossdale PD, Peace CK, Cketts SW, Mc Enery RJ, Thorne JP, Short RV, Allen WR (1975b). Chromosome abnormality as a causa of infertility in mares. *Journal Reproduction. Fértility.*, Suppl. 23: 377-383.
11. Power MM (1987 b) Equine half with an unbalanced X; 15 translocation or trisomy 28. *Cytogenetics. Cell. Genetics*. 45: 163-168.
12. Klunder L and Mc. Feely (1989). Chromosome analysis of 130 equine clinical cases. *Proc. Eur. Colloq. Cytogenetic. Domestic. Animal 6th*. p. 8.
13. Queinnec G, Berland HM, Darre R, Carlotti D (1975). Anomalie chromosomique chez un cheval. *Rev. Med. Vet.*, 38: 323-327.
14. Herzog A, Hohn H, Hecht WC (1988). A 63,XO/64,XYY t(Y;Y) mosaic in a foal. *Proc. Eur. Colloq. Cytogenetic. Domestic. Animals.*, 8th., Bristol. p. 60-65.
15. Lear TL, Lundquist J, Zent WW, Fishback Jr W D, and Clark A (2008). Three autosomal chromosome translocations associated with repeated early embryonic loss (reel) in the domestic horse (*Equus caballus*). *Cytogenetic and genome research*, 120(1-2), 117-122.
16. Halnan CRE (1982). Rapid method for recognition of the X chromosome and recognition of the Y chromosome in horses. *Proc. Eur. Colloq. Cytogenet. Domest. Animal 5th*: 118-124.

17. Bowling AT, Millon L, Hughes JP (1987). An update of chromosomal abnormalities in mares. J. Reprod. Fétil., Suppl. 35: 149-155.
18. Payne HW, Ellerworth K, De Groot A. (1968) .Aneuploidy in an infertile mare. J. Am. Vet. Med. Assoc. 153: 2931299.
19. Bouters R, Vandeplassche M, and Moor A. (1972). An intersex (male pseudohermaphrodite) horse with 64 XX/65 XXY mosaicism. Equine veterinary journal, 4(3), 150-153.
20. Teri, I L Lear, (2010) Diagnosticando trastornos del desarrollo sexual en caballos: ¿macho o hembra? Revista Veterinaria Argentina, vol 28 nº 270 (1-12).2010
21. Abe S, Miyake Y ., Kageyama, S I, Watanabe G, Taya K, and Kawakura, K. (1999). Deletion of the Sry region on the Y chromosome detected in a case of equine gonadal hypoplasia (XY female) with abnormal hormonal profiles. Equine veterinary journal, 31(4), 236-238.