Utilidad de un programa de control de alteraciones cromosómicas en verracos

Alfonso Bolarín Guillén
Director de Calidad y Desarrollo AIM Ibérica.

INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN DEL ANÁLISIS

Las alteraciones cromosómicas numéricas o estructurales fueron descritas por primera vez en 1959 en humanos, donde se han estudiado más exhaustivamente, y pueden ser adquiridas o congénitas. Las primeras suelen acontecer en edad avanzada o en ciertos tumores (*Debernardini y cols., 2004*), y solo afectan a un número determinado de células. Las alteraciones congénitas constitucionales, sin embargo, suelen estar presentes en todas las células por igual (excepto en el caso de mosaicismos), y además pueden heredarse (en el caso de que el individuo sea reproductivamente competente), o pueden aparecer *de novo* por una nueva mutación en el individuo. En el caso de los seres humanos está bien definido que el porcentaje de alteraciones cromosómicas *de novo* es de alrededor del 0,43%, de las cuales aproximadamente la mitad son reorganizaciones en las cuales no hay pérdida de información genética (por ejemplo, traslocaciones o inversiones), las cuales pueden originar malformaciones y alteraciones reproductivas (*McKinlay-Gardner & Sutherland, 2004*). En animales las alteraciones cromosómicas no han sido tan profundamente estudiadas como en el ser humano. En el ganado porcino, la alteración cromosómica más frecuentemente descrita es la traslocación recíproca (*Ducos y cols., 2007*). La mayoría de traslocaciones recíprocas son distintas entre sí. Un

Figura 1. Cariogramas de los cinco casos con alteraciones detectados en AIM en los últimos 24 meses.

Nº Metafases Analizadas: 15
CARIOTIPO: 38,XY,t(2,8)(p15;q21)
COMENTARIO: En todas las metafases estudiadas y con la resolución alcanzada, observado la reorganización indicada.

Nº Metafases Analizadas: 100
CARIOTIPO: Chi 38,XX[33]/38,XY[67]
COMENTARIO: Resultado quimérico confirmado con muestra 11856/1

Nº Metafases Analizadas: 15
CARIOTIPO: 38,XY,t (3;10)(p16;q12)
COMENTARIO: En todas las metafases estudiadas y con la resolución alcanzada, observado la reorganización indicada.

Nº Metafases Analizadas: 15
CARIOTIPO: 38,XY,t(10;15)(q15;q15)
COMENTARIO: En todas las metafases estudiadas y con la resolución alcanzada, observado la reorganización indicada.

Nº Metafases Analizadas: 15
CARIOTIPO: 38,XY,inv(4)(p13;q23)
COMENTARIO: En todas las metafases estudiadas y con la resolución alcanzada, observado la reorganización indicada.

PRUEBA: CARITIPO CONSTITUCIONAL EN SANGRE PERIFÉRICA.
MÉTODO DE ESTUDIO: Cultivo de linfocitos estimulados con Fitohemaglutinina (PHA) durante 72 horas.
Tinción convencional Bandas GTL.

NOTA: El presente resultado no incluye los hallazgos cromosómicos interpretados como variantes de la normalidad y está sujeto a las limitaciones propias de este tipo de estudio, como pueden ser, entre otras, la presencia de un mosaicismo cromosómico de baja frecuencia, anomalías cromosómicas de pequeño tamaño y discrepancia entre tejidos.

individuo heterocigoto portador de una traslocación recíproca producirá una alta proporción de gametos defectuosos (*Pinton y cols., 2004*), lo que ocasionará alta mortalidad embrionaria (*Long, 1991*), que conllevará descenso de fertilidad, pero más probablemente descenso marcado de prolificidad (*Pinton y cols., 2000*). En verracos, se ha descrito relación entre hipoplasia testicular y azoospermia con traslocaciones en cromosomas no autosómicos (*Villagomez y cols., 2017*), aunque generalmente no hay una sintomatología asociada a una alteración cromosómica concreta. Además, la mitad de la descendencia será a su vez portadora del desorden, lo cual generará potencialmente grupos poblacionales con mayor prevalencia (*Rodríguez y cols., 2010*). En un proceso de tipificación de alteraciones cromosómicas de una población y eliminación de los elementos positivos, es lógico esperar una mayor prevalencia inicial (*Quatch y cols., 2009*) y una prevalencia igual a la incidencia de alteraciones *de novo* en la población al final. Esta última prevalencia se sitúa alrededor del 0,5-0,7% (*Ducos y cols., 2007; Ducos y cols., 2002*). Topigs Norsvin analiza las alteraciones cromosómicas de sus verracos GGP y GP rutinariamente desde 2005, con lo que podemos asumir que todas las anomalías cromosómicas halladas hoy día son debidas a mutaciones *de novo*. El objetivo al plantear un programa de control y análisis de alteraciones cromosómicas en verracos reproductores, es que el coste del análisis debe quedar justificado por el beneficio que obtiene la granja al hallar y eliminar individuos positivos (*Feitsma & De Vries, 2006*).

EL ESTUDIO LABORATORIAL DE LAS ALTERACIONES CROMOSÓMICAS

Para llevar a cabo el análisis de cariotipo, las células (preferentemente linfocitos sanguíneos) son estimuladas hacia la mitosis mediante un mitógeno (como fitohemaglutinina), deteniéndose en metafase mediante colchicina. Posteriormente, los telómeros son teñidos mediante tinción Giemsa, estableciéndose las bandas G que identifican más nítidamente a los cromosomas que, junto con su forma, tamaño, y posición del centrómero, se comparan entre homólogos a través de un cariograma (la representación gráfica de cada par de cromosomas en metafase y teñidos). Esta técnica de cariotipado es bastante sensible a la contaminación y a muestras dañadas, y con frecuencia hay que repetir el proceso. Es preciso realizar sólo un análisis por animal en su vida, pues el resultado del cariograma de la estirpe celular linfocitaria no varía en la vida productiva de un animal lo suficiente como para su detección.

RESULTADOS DEL PROGRAMA DE CONTROL EN AIM 2017-2018, COSTES Y CONCLUSIONES

Cada análisis tiene un coste medio ponderado aproximado de 92 € durante los años 2017-2018, incluyendo el coste del análisis, extracción de sangre (materiales y mano de obra) y transporte de muestras. En los últimos 24 meses, se han analizado un total de 675 animales (tanto líneas hembra como cárnicas), de los

Tabla 1. *Número de animales analizados, alteraciones cromosómicas halladas y prevalencia total de las alteraciones en los centros de AIM Ibérica en los últimos 24 meses.*

	Verracos	Prevalencia
Sin alteración	670	99,26%
38,XY,inv(4)(p13;q23)	1	0,74%
38,XY,t(10;15)(q15;q15)	1	
38,XY,t(2;8)(p15;q21)	1	
38,XY,t(3;10)(p16;q12)	1	
CHI 38,XX[33]/38,XY[67]	1	
TOTAL	675	

cuales han resultado positivas 5 muestras (0,74%; *Tabla 1*), que fueron eliminados inmediatamente del centro de inseminación: 3 traslocaciones, una inversión y una quimera (*Figura 1*). Es evidente que ninguno de los machos hallados con alteraciones cromosómicas llegó a tener resultados controlados de fertilidad en granja, con lo cual no estamos seguros de la implicación real que cada una de las alteraciones podría haber tenido en la prolificidad de las explotaciones que recibían dosis seminales de estos animales. Sin embargo, la quimera (un macho con 1/3 de sus células sanguíneas XX y 2/3 XY) no tenía afectados los espermatozoides (que eran X o Y, indistintamente), con lo cual su prolificidad (y su fertilidad) no se veían amenazadas, no siendo esta alteración concreta hereditaria.

El coste de los análisis de cariotipado puede estimarse en 31.096 € anuales. Si asumimos que el descenso en prolificidad del verraco es de 4 lechones, y también asumimos que no detectamos ese descenso (por ejemplo, porque el macho es usado en heterospermia), con un precio de lechón de 38€ la pérdida que un verraco de estas características puede originar en las granjas supera los 139.000€. Con esta simulación, deberíamos detectar un macho con alteración al menos cada 4,5 años para que el análisis resulte rentable al ganadero. Esto significa un positivo en 1.521 machos (una prevalencia del 0,07%). En estas condiciones, podemos afirmar que la inversión en el estudio y control del cariotipo en poblaciones estabilizadas estaría justificada.

Tabla 2. *Modelo de producción y afección provocada por un verraco con alteración cromosómica, impacto económico originado por el uso del verraco en producción, y coste del análisis de cariotipo.*

Asunciones de producción en el verraco	
Dosis producidas por verraco y año	2200
Dosis necesarias por camada	2,4
Reducción de prolificidad	4
Impacto económico	
Camadas / verraco / año	916,7
Pérdida de lechones anual estimada	3666,7
Precio estimado del lechón	38 €
Coste por macho afectado	**139.333 €**
Coste individual (todo incluido)	92 €
Población anual de verracos analizados	338
Coste anual del análisis poblacional	**31.096 €**

Bibliografía

Debernardini S, Lillington D, Young BD. Understanding cancer at the chromosome level: 40 years of progress. 2004. Eur J Cancer 40:1960-1967.

Ducos A, Berland HM, Bonnet N, Calgaro A, Billoux S, Mary N, Garnier-Bonnet A, Darré R, Pinton A. Chromosomal control of pig populations in France: 2002-2006 survey. 2007. Genet Sel Evol. 39:583-597.

Ducos A, Pinton A, Yerle M, Seguela A, Berland HM, Brun-Baronnat C, Darré R. Cytogenetic and molecular characterization of 8 new reciprocal translocations in the pig species. Estimation of their incidence in the French populations. 2002. Genet Sel Evol, 34:389-406.

Feitsma H, De Vries AG. Prevalence of reciprocal translocations in AI boars and economic justification for culling reciprocal translocation positive boars. 2006. In Proceedings of the 19th IPVS Congress, Copenhagen (Vol. 1) p 546. Ed JP Nielsen and SE Jorsal. American Association of Swine Veterinarians, Perry, Iowa.

Long SE. Reciprocal translocations in the pig (Sus scrofa): a review. 1991. Vet Record, 128:275-278.

McKinlay-Gardner RJ, Sutherland GR. Basic concepts: elements of medical genetics. 2004. In: McKinlay-Gardner RJ, Sutherland GR (Eds.), Chromosome abnormalities and genetic counselling, Oxford University Press, New York, pp 3-19.

Pinton A, Ducos A, Berland HM, Seguela A, Brun-Baronnat C, Darré A, Darré R, Yerle M. Chromosomal abnormalities in hypoprolific boars. 2000. Hereditas, 132:55-62.

Pinton A, Ducos A, Yerle M. Estimation of the proportion of genetically unbalanced spermatozoa in the semen of boars carrying chromosomal rearrangements using sperm FISH. 2004. Genet Sel Evol, 36:123-137.

Quatch TA, Villagómez DA, Coppola G, Pinton A, Hart EJ, Reyes ER, Basrur PK, King WA. A cytogenetic study of breeding boars in Canada. 2009. Cytogenet Genome Res, 126(3):271-280.

Rodriguez A, Sanz E, De Mercado E, Gomez E, Martin M, Carrascosa C, Gómez-Fidalgo E, Villagómez DA, Sánchez-Sánchez R. Reproductive consequences of a reciprocal chromosomal translocation in two Duroc boars used to provide semen for artificial insemination. 2010. Theriogenology, 74(1):67-74.

Villagomez DA, Revay T, Donaldson B, Rezaei S, Pinton A, Palomino M, Juniadi A, Honaramooz A, King WA. Azoospermia and testicular hipoplasia in boar Carrier of a novel Y-Autosome translocation. 2017. Sex Dev, 11(1):46-51.