

Citogenética veterinaria, herramienta de diagnóstico e investigación en animales

Ferré, D.; Quero, M.; Llaver, L.; Hynes, V.; Albarracín, L.; Pedrosa, A.; Ojeda, N.; Cuervo, P. y Gorla, N.

Facultad de Ciencias Veterinarias y Ambientales. UMaza
ngorla@ayv.unc.edu.ar

Resumen

En la Facultad de Ciencias Veterinarias y Ambientales (FCVA), Universidad Juan Agustín Maza (UMaza) se desarrollan métodos de citogenética animal en mamíferos y en aves para efectuar aportes al diagnóstico clínico y en la investigación de nuevas situaciones. Se presentan los resultados de los estudios efectuados en una perra Weimaraner con ambigüedad sexual (78, XX), el cariotipo de tres animales del género Ovis (2n:54) la oveja de Somalí, el Muflón de Córcega y una cría de ambos; y el cariotipo de aves Columba estiva (2n: 80) y Gallus gallus (2n:78) con el objetivo no solo de la caracterización cromosómica de las mismas sino también para desarrollar metodología que permita la determinación sexual en aves sin dimorfismo sexual.

La relevancia de los cromosomas en la salud humana y las enfermedades cobró importancia hace poco más de 50 años cuando las técnicas citogenéticas permitieron delinear los cromosomas. La citogenética veterinaria se ha visto beneficiada por la información generada en citogenética humana. La finalidad de esta ciencia se ha movido desde el conocimiento de la estructura y el número de los cromosomas hasta la citogenética molecular para ser usada en la investigación o el diagnóstico. Un área donde el potencial de la genética veterinaria será desarrollado es la reproducción, dado que una aberración heredada que impacte en la eficiencia reproductiva puede comprometer el éxito obtenido durante años en producción animal. En la FCVA, somos un grupo en formación constituido por 5 docentes y 4 estudiantes, que tiene como objetivo implementar metodologías de citogenética animal. Se comenzó con estudios citogenéticos en monos neotropicales (Ferré y col., 2007) y más recientemente se ha aportado desde la citogenética al diagnóstico clínico de una perra Weimaraner con ambigüedad sexual (Quero y col, 2009); se ha descrito el cariotipo de la oveja de Somalí, del Muflón de Córcega y de una cría producto de la cruce de ambos; y se está efectuando el cariotipo de aves con el objetivo no solo de la caracterización cromosómica de las mismas sino también para contribuir a la determinación sexual en aves sin dimorfismo sexual.

La metodología citogenética en mamíferos comienza con la extracción de pocos ml de sangre venosa periférica con jeringa heparinizada, en condiciones estériles. Se efectúa un cultivo celular durante 72 horas a 37° C de acuerdo a los métodos convencionales (Moorhead et al., 1960) con medios de cultivo, suplementado con Suero Fetal Bovino y estimulación de linfocitos a entrar en mitosis mediante el agregado de Fitoemaglutinina. La división celular es detenida en metafase empleando Colchicina. Con la hipotonización y fijación posterior se obtienen los extendidos cromosómicos, se colorean con Giemsa y se obtienen las bandas G mediante tratamiento con tripsina (Seabright, 1971). Para realizar el estudio cromosómico se examinan al microscopio 20 metafases consecutivas y se realiza el cariotipo en 6 metafases. En el caso de las aves los cultivos se efectúan a partir de las pulpas de plumas en crecimiento y cultivos de tiempos más cortos en condiciones semejantes.

Resultados

Cariotipo en perra Weimaraner con ambigüedad sexual: En una hembra de esta raza con una anomalía anatómica en la vulva con presencia de hueso en las radiografías y ausencia de estro puberal se obtuvieron metafases para realizar el cariotipo con Bandas G e Hibridación In Situ por Fluorescencia (FISH). Se analizó por FISH mediante la hibridación con la sonda XY (Ysis). El cromosoma X emite una señal roja (región centromérica alfa-satélite; Xp11.1-q11.1), mientras que el cromosoma Y emite una señal verde (ADN satélite Yq12). El cariotipo de la perra estudiado es 78, XX. Se rescata el uso de la citogenética convencional y citomolecular como métodos complementarios para aportar al diagnóstico clínico de animales domésticos.

Cariotipo de oveja de Somalí hembra, Muflón de Córcega macho y la cría producto de la cruce de ambos: A raíz del nacimiento espontáneo de una cría producto de la cruce de una hembra Oveja de Somalí y un macho Muflon, *Ovis steatopigas* y *Ovis Orientalis* respectivamente, se decidió efectuar el estudio citogenética del grupo. Se obtuvo el cariotipo $2n:54$, con el patrón básico de morfología cromosómica del género *Ovis*, en los tres animales con una variación en mosaico en el 20% de las metafases de la cría. No encontramos en la bibliografía internacional el reporte previo del cariotipo de la oveja de Somalí.

Cariotipos de aves: Se presenta el cariotipo de *Columba estiva* ($2n: 80$) y de *Gallus gallus* ($2n:78$). La presencia de los microcromosomas es lo que hace dificultoso el armado de los cariotipos en aves, ya que su tamaño es de menos de 1 micromilímetro; lo que provoca divergencias de acuerdo al número y morfología. En aves, obtener el cariotipo brinda la posibilidad de sexar aquellas especies sin dimorfismo sexual. Se estima que el sexo de los individuos adultos, no ha sido identificado en el 50% de las especies del mundo. En aves, el análisis del cariotipo es una herramienta importante para los planes de conservación y también provee información sobre el estado filogenético de las especies. La Argentina posee una enorme diversidad de aves que alcanza las 975 especies de las cuales 61 especies están próximas a la amenaza, 35 en estado vulnerable, 8 en peligro y 3 en peligro crítico. El análisis del cariotipo es fundamental para estudiar variaciones dentro de una misma especie, para comparar especies, correlacionar determinadas patologías con alteraciones del cariotipo normal, para sexar aves, diseñar planes de conservación, en taxonomía y en la construcción de los árboles filogenéticos.

Bibliografía

- Basrur PK, Stranzinger G, Veterinary cytogenetics: past and perspective, *Cytogenet Genome Res*, 2008, 120:11-25.
- Ferré D, Chirino M, Steinberg ER, Nieves M, Gorla NBM, Pedrosa A, Albarracín L, A, Duarte A, Mudry MD, Cariosistemática en primates de distribución marginal sur: nuevos aportes desde el zoológico de la ciudad de Mendoza, Abstracts from the First Meeting of Argentine Biology Societies, *Biocell*, 2008, 32(1): 41.
- Iannuzzi L, Di Berardino D, Tools of the trade: diagnostics and research in domestic animal Cytogenetics, *J Appl Genet*, 2008, 49, 357-366.
- Moorhead, P.; Nowel, P., Mellman, W., Battips, D., Hungerford, D. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Experimental Cell Research* 1960; 20: 613-616
- Quero AAM, P Gargallo, L Martín, L Albarracín, V Hynes, DM Ferré, Larripa IB, NB Gorla, Hibridación in situ por fluorescencia en perra weimaraner con ambigüedad sexual, XXXVIII Congreso Argentino de Genética, 21 al 24 de Setiembre, Tucumán, 2009.
- Seabright, M. A rapid banding technique for human chromosome. *Lancet* 1971; 971-972.