

Genetyczna wada CVM (zespół zniekształceń kręgosłupa) nowym wyzwaniem w krajowej i światowej hodowli bydła mlecznego

Grzegorz Grzybowski

IGiHZ PAN w Jastrzębcu

Występowanie i natura mutacji genowych u bydła

Występowanie mutacji w genomie roślin i zwierząt jest powszechne, a wynikająca stąd wewnątrz- i międzygatunkowa zmienność organizmów jest jedną ze składowych biologicznej różnorodności świata i stanowi podstawę pracy hodowlanej. Mutacje pojawiają się spontanicznie i w ogromnej większości mają charakter neutralny, tzn. nie oddziałują w widoczny sposób na sprawność funkcjonowania organizmów.

Zmiany o dziedzicznym charakterze, które wywierają negatywny wpływ na tzw. cechy przystosowalności (np. zdrowie, zdolność reprodukcji) są samoistnie eliminowane z populacji lub, tak jak w przypadku zwierząt gospodarskich, podlegają także negatywnej selekcji hodowlanej. U różnych ras i odmian bydła na świecie zarejestrowano występowanie co najmniej 250 rozmaitych defektów dziedzicznych, w stosunku do których wykazano wpływ na cechy zewnętrzne (np. wzrost palców, zmiana zabarwienia czy brak owłosienia) lub na metabolizm. Większość z tych zmian nie stanowi zagrożenia dla produkcji zwierzęcej, ponieważ występuje sporadycznie lub u ras czy odmian bydła mających mniejsze znaczenie ekonomiczne.

Niektóre mutacje, mimo że niekiedy towarzyszą im ujemne skutki uboczne, uznawane są w hodowli za pożądane. Taka sytuacja ma miejsce w przypadku mutacji odpowiedzialnych za występowanie hipertrofii mięśni (zjawisko to bywa określane mianem „podwójnego umięśnienia”). W niektórych krajach, np. w Belgii i we Francji, krzyżowanie towarowe z buhajami hipertroficznymi wprowadzono już do oficjalnych programów hodowlanych.

Wśród mutacji genowych występujących u bydła szczególnie istotna jest kategoria wielce niepożądanych i „podstępnych” defektów, które prowadzą do wystąpienia tzw. chorób genetycznych. Należy pamiętać, że prawie 90% z rozpoznanych dotychczas defektów u bydła to jednogenne cechy

recesywne. Taki charakter jest podstawową przeszkodą uniemożliwiającą wczesne rozpoznanie danej wady, a zatem podejmowanie działań zapobiegających stratom w hodowli jest niemożliwe. Najistotniejsze jest to, że recesywne podłoże wady powoduje iż osobniki heterozygotyczne, mimo że posiadają mutację w swym genomie, nie odróżniają się w niczym od zwierząt normalnych i jako cenne genetycznie są odchowywane z przeznaczeniem do reprodukcji. Przy kojarzeniu takich osobników ze zwierzętami normalnymi nie występują biologiczne skutki mutacji, ale następuje gromadzenie danego defektu w populacji czemu sprzyja zastosowanie w hodowli sztucznego unasieniania oraz innych biotechnik rozrodu (np. metody MOET). Ponieważ 50% potomstwa z takich kojarzeń staje się nosicielami, nawet jeden osobnik – nosiciel intensywnie wykorzystywany w reprodukcji – rozprowadza daną mutację w puli genów populacji, a poprzez eksport lub import nasienia i zarodków może być ona rozniesiona w różne rejony świata. Tu właśnie tkwi owa „podstępność” zmian genetycznych o recesywnym charakterze, gdyż związane z nimi problemy długi czas pozostają ukryte i pojawiają się nagle. Wystąpienie w hodowli pierwszych przypadków zwierząt dotkniętych wadą (tzn. zwierząt homozygotycznych względem zmutowanego genu) oznacza bowiem, że w populacji musiało już dojść do znacznego nagromadzenia zmutowanego genu. Dlatego przy eliminowaniu z populacji niepożądanych zmian genetycznych szczególnego znaczenia nabierają badania umożliwiające wczesne rozpoznanie patologicznej formy ujawniania się wady, a następnie wykrywanie i eliminowanie nosicieli z hodowli lub nie dopuszczanie do ich wzajemnych kojarzeń.

Światowa Federacja Związków Hodowców Bydła Holsztyńsko-Fryzyskiego powołała stałą grupę roboczą zajmującą się aktualnymi problemami defektów genetycznych u bydła tej rasy. Dla potrzeb monitorowania wad (chorób) genetycznych, w wielu krajach założono bazy danych z tego zakresu, a kumulowane w nich dane wykorzystuje się w narodowych programach hodowlanych. Przykładem może być, zainicjowany w Danii, program genetyczno-weterynaryjnej prewencji (Danish Bovine Genetic Disease Program), którego wdrożenie umożliwiło zdiagnozowanie dwóch nowych chorób dziedzicznych u bydła duńskiego czerwonego: zanik rdzeniowy mięśni (spinal muscular atrophy) i dysmielinizacja rdzenia kręgowego (spinal dysmyelination), a w ostatnim czasie wykrycie u bydła h.f. wady genetycznej CVM. Skrót ten jest kompilacją utworzoną z pierwszych liter nazwy angielskiej: Complex Vertebral Malformation. Natomiast w polskim nazewnictwie hodowlano-weterynaryjnym CVM określa się jako „zespół zniekształceń kręgosłupa”.

Celem niniejszego artykułu jest przedstawienie głównych informacji na temat etiopatologii oraz rozpowszechnienia u bydła h.f. anomalii genetycznej CVM oraz zwrócenie uwagi na możliwość niezamierzonego jej rozpowszechniania, po-

przez selekcję skierowaną na cechy mleczności. Wskazano także na zagrożenia dla polskiej hodowli bydła czarno-białego, wynikające ze współzależności między występowaniem CVM a występowaniem mutacji D129G (BLAD).

Wykrycie, genetyczna natura oraz etiopatologia CVM

Pierwsza na świecie informacja o CVM ukazała się w końcu 2000 roku, jest to więc zagadnienie nowe, a jego istnienie często budzi niedowierzanie. Autorami wspomnianej informacji byli naukowcy z Danii. Pierwszy sygnał o CVM wyszedł zatem z Europy, lecz wszystkie dotychczasowe dane dowodzą, że genetyczne korzenie problemu tkwią w hodowli bydła h.f. w USA. Przypuszczalnie wada CVM wywodzi się od jednego protoplasty – jednego z synów słynnego buhaja Osborna dale Ivanhoe. Według dotychczasowego stanu wiedzy, CVM zdefiniowano jako jednogenową autosomalną wadę recesywną przenoszoną przez nosicieli. Gen normalny oznacza się umownie jako TV, a jego zmutowaną postać jako allel CV. Obecność alleli TV i CV w puli genów bydła powoduje, że występują zwierzęta o trzech genotypach: TV/TV (genotypy normalne), CV/TL (nosiciele mutacji) i CV/CV (homozygoty z zespołem zniekształceń kręgosłupa CVM). Nie zidentyfikowano jeszcze genu-kandydata oraz rodzaju mutacji. Nie rozpoznano także kluczowego ogniwa metabolicznego oraz mechanizmu i chronologii zmian patologicznych, tzn. nie ustalono co w okresie prenatalnym jest pierwotnym czynnikiem inicjującym powstawanie późniejszych zmian. Ze względu na różnorodną formę i czas wystąpienia patologicznych objawów, wada CVM może być szczególnie trudna do monitorowania przy użyciu konwencjonalnych metod diagnostyki weterynaryjnej. W warunkach normalnej hodowli ogromna większość przypadków CVM przypuszczalnie pozostaje nie zdiagnozowana.

Charakterystycznym symptomem jest obecność rozmaitych deformacji kręgosłupa u prawie donoszonych cieląt, które rodzą się martwe. Zmiany patologiczne umiejscowione są najczęściej w obrębie szyjnego i na początku piersiowego odcinka kręgosłupa. Wprawdzie osobniki dotknięte CVM mają nieco niższą masę ciała niż cielęta normalne, a w niektórych przypadkach występuje nieznaczne skrócenie szyi (przypuszczalnie na skutek braku niektórych kręgów), jednak oględziny zewnętrzne nie dają podstaw do pewnego zdiagnozowania CVM. Najistotniejszym czynnikiem utrudniającym rozpoznanie jest zmienne nasilenie zmian patologicznych. Występować może tylko nieznaczne boczne skrzywienie kręgosłupa. W większości przypadków występują znacznie większe deformacje: ubytki w kręgach, nie w pełni wykształcone kręgi lub brak niektórych z nich, rozczłonkowanie trzonów lub ich wadliwe połączenie, zupełny brak połączeń lub wadliwe zesławienie kręgów z żebrami, brak niektórych żeber, częściowy wzrost żeber itp. Wprawdzie duże deformacje można stwierdzić przez palpację, jednak obiektywnego rozpoznania podejrzanych przypadków (szczególnie niewielkich anomalii)

można dokonać wyłącznie na podstawie rentgenowskiego obrazu kręgosłupa i żeber, czego nie przeprowadza się w terenowym nadzorze weterynaryjno-zootechnicznym. Niezależnie od zmian patologicznych umiejscowionych w obrębie szyjnego i na początku piersiowego odcinka kręgosłupa, u martwo urodzonych cieląt zarejestrowano występowanie różnorodnych anomalii (nie mogących być podstawą do diagnozy CVM), m.in.: defektów w przegrodzie międzykomorowej serca, przerostu prawej komory, deformacji dużych naczyń wieńcowych, a w jamie piersiowej często występuje płyn o krwistym zabarwieniu.

Z dotychczas zebranych informacji wynika, że destrukcyjne skutki CVM mogą wystąpić w każdym okresie prenatalnego rozwoju i manifestować się m.in. jako: zamieranie zarodków, obumieranie i resorpcja płodu na wczesnym etapie rozwoju, poronienia w różnym okresie ciąży. Przypuszcza się, że 80% homozygotycznych genotypów CV/CV podlega eliminacji już we wczesnym stadium prenatalnego rozwoju. Straty w reprodukcji związane z występowaniem tej wady są więc trudne do rozpoznania w warunkach normalnej hodowli. Łatwo je pomylić z różnymi przypadkami niepowodzeń w hodowli, wynikającymi z uwarunkowań środowiskowych, niewłaściwego żywienia, niefachowej obsługi zwierząt itp.

Występujące w okresie okołoporodowym przypadki martwych cieląt z charakterystycznymi deformacjami kręgosłupa, to tylko jedna z form ujawniania się wady. Zatem przy kojarzeniu osobników o genotypach CV/TV x CV/TV, spośród 25% spodziewanych genotypów homozygotycznych CV/CV, tylko ich niewielka liczba ujawni się w formie typowego zespołu CVM. Ze względu na heterogenność zjawiska CVM oraz brak możliwości jego kontroli przy wykorzystaniu konwencjonalnych metod weterynaryjnej diagnostyki, jedynym sposobem prewencji jest zastosowanie szerokiego programu wykrywania nosicieli. W Danii opracowano test molekularny służący temu celowi, lecz opinie na temat jego skuteczności są rozbieżne. Autorzy testu określają jego skuteczność na 98%. Natomiast władze związku hodowców bydła h.f. w USA oceniają (nie podając co jest podstawą ich wnioskowania), że w ponad 25% przypadków nie uzyskuje się definitywnej odpowiedzi odnośnie do nosicielstwa wady. Najważniejsze elementy molekularnej procedury identyfikacyjnej nie zostały dotąd ujawnione. Z dostępnych informacji wynika, że nosiciele CVM diagnozowani są w drodze analizy pośredniej, w której wykorzystuje się dane dotyczące sprzężenia przypuszczalnego locus CVM z loci dla markerów flankujących. Dla potrzeb pełnego wyjaśnienia genetyczno-weterynaryjnych aspektów CVM powołano w USA sztab kryzysowy, zlokalizowany w Veterinary Diagnostic Center, University of Nebraska, Lincoln.

Po dłuższym okresie ostrożnego podejścia (a nawet nie wiary, że bydło CVM w ogóle występuje), w końcu 2001 r. władze związku hodowców bydła h.f. w USA oficjalnie uznały,

że CVM jest recesywną wadą genetyczną, wysoce niepożądaną i istnieje pilna potrzeba wprowadzenia szerokiego programu prewencji. Informacje o nosicielstwie podano już w niektórych katalogach firm komercyjnych, oferujących nasienie buhajów (zwierzęta wolne od wady oznaczane są jako TV, a nosiciele jako CV). Decyzja dotycząca wdrożenia programu wykrywania nosicieli allelu CV oznacza, iż jego monitorowanie nie jest już lokalnym problemem danego kraju, lecz wprowadzenie badań z tego zakresu staje się wymogiem dla wszystkich państw (także dla Polski), gdzie występuje bydło h.f.

Wada genetyczna CVM stała się szybko problemem o światowym zasięgu, podobnie jak przed laty zespół zaburzeń immunologicznych BLAD wywołany mutacją D128G w genie CD18. Genetyczne podłoże anomalii BLAD i CVM jest identyczne, obydwie są warunkowane autosomalnymi mutacjami recesywnymi, których niszczące skutki ujawniają się w genotypach homozygotycznych. Ponadto, zarówno w przypadku allelu BL jak i CV, głównym ich rezerwuarem jest ta sama pula genowa (bydło h.f. w USA).

Badania nad CVM w Polsce

Polskie badania nad CVM podjęto w IGiHZ PAN w Jastrzębcu na początku 2001 r. Z wyników dotychczasowych analiz wynika, że nagromadzenie wady CVM w krajowej populacji może być znaczne. W okresie kiedy anomalia CVM nie była jeszcze na świecie rozpoznana jako groźna wada dziedziczna, przypuszczalnie nastąpił jej znaczny import do Polski, a z uwagi na silny związek CVM z doskonaleniem cech wydajności mlecznej, częstość allelu CV w puli genowej populacji musiała sukcesywnie wzrastać. Z przeprowadzonej analizy krajowego rejestru buhajów wynika, że zarejestrowano w Polsce co najmniej 252 wnuków światowego protoplasty CVM. Dane te są z pewnością zaniżone, ponieważ odnoszą się tylko do męskiego materiału reprodukcyjnego i zostały oszacowane na podstawie informacji o skali ewidencjonowanego importu, tzn. zakupów nasienia dokonywanych wyłącznie za pośrednictwem polskich władz hodowlanych.

Zagrożenie polskiej populacji bydła czarno-białego wadą CVM wynika także z faktu, że główny światowy nosiciel allelu CV jest z pewnością nosicielem mutacji D128G (BLAD).

Badania na obecność mutacji D128G (BLAD) w genomie bydła są w Polsce prowadzone od 1995 r., a od 1999 r. testy w tym kierunku są obowiązkowe (Dz.U. Nr 20, poz. 174). Należy jednak podkreślić, że chociaż światowy protoplasta defektu CVM jest także nosicielem anomalii BLAD, prowadzenie selekcji negatywnej na allel BL (co ma miejsce także w Polsce) nie eliminuje z puli genowej allelu CV, ponieważ segregują one niezależnie. Biorąc pod uwagę powyższe fakty jest pewne, że allel CV (a zatem i defekt CVM) jest obecny w puli genowej polskiej populacji bydła mlecznego. Do zweryfikowania pozostaje jedynie skala jego faktycznego rozprzestrze-

nienia oraz rozpoznanie form jego najczęstszego ujawniania się. Przy ocenie skali obecnych i przyszłych zagrożeń związanych z występowaniem CVM, należy uwzględnić silny związek tej wady z priorytetem selekcyjnym. Jeżeli w genomie występuje recesywna mutacja niekorzystnie oddziałująca na którąś z cech przystosowawczych, ale jednocześnie wiążąca się korzystnie (z zasady przypadkowo) z priorytetem selekcyjnym, wtedy wystąpienie po pewnym czasie jej skutku biologicznego jest nieuchronne. Priorytet selekcyjny potęguje skalę nagromadzenia defektu w puli genów, co po pewnym czasie prowadzi do nieuniknionych kojarzeń nosicieli i masowego pojawiania się homozygotycznych genotypów recesywnych. W rankingu 100 czołowych buhajów h.f. w USA co najmniej 20% osobników to nosiciele anomalii CVM (oficjalne dane za listopad 2001 r., opublikowane przez Holstein Association USA). Natomiast wśród 20 czołowych buhajów skala nosicielstwa dochodzi do 30%. Istnieje więc pilna konieczność, aby wykorzystując w Polsce genetyczny potencjał bydła h.f. do doskonalenia cech mleczności w krajowym pogłowie bydła c.b., nie dopuszczać do rozpowszechniania defektu CVM w puli genowej populacji.

Diagnozowanie przypadków CVM oraz włączenie obserwacji z tego zakresu do różnicowej diagnostyki strat występujących w prenatalnym okresie rozwoju cieląt i w okresie okołoporodowym, a zwłaszcza wprowadzenie do praktyki testu DNA na nosicielstwo CVM, jako ważnej informacji wykorzystywanej w krajowym programie hodowli bydła, to pilne wyzwanie także dla polskiej hodowli i weterynarii.

Biorąc pod uwagę zagrożenia dla hodowli wynikające z CVM i fakt, że dotychczasowa wiedza na ten temat jest fragmentaryczna, już w połowie ubiegłego roku IGiHZ PAN w Jastrzębcu przedstawił Komitetowi Badań Naukowych projekt badań poświęcony temu zagadnieniu: „Wykrywanie wad dziedzicznych w genomie bydła” (3 PO6D 014 22). Jednak projekt nie uzyskał poparcia, gdyż uznano, że „w Polsce nie zarejestrowano wystąpienia wady CVM, podjęcie tych badań nie zapewnia uzyskania wyników”, a jeden z recenzentów nawet uznał, iż „cały projekt jest chyba jakimś nieporozumieniem”, gdyż badania byłyby szukaniem „czegoś czego może w ogóle nie być w materiale biologicznym w Polsce”! Ze względu na odmowę finansowego poparcia KBN, co w aktualnych realiach funkcjonowania nauki jest równoznaczne z zablokowaniem rozpoczętych badań nad CVM, sytuacja jest obecnie trudniejsza, gdyż straconego czasu nie da się już nadrobić. Można jedynie mieć nadzieję, że polskie władze hodowlane wezmą zagadnienie CVM we własne ręce, dostrzegając konieczność ochrony polskiej hodowli przed ekonomicznymi skutkami tej anomalii i wspólnie z IGiHZ PAN w Jastrzębcu podejmą wysiłek umożliwiający rozwiązywanie tego problemu.