

Achondroplazja bydła

TOMASZ ZĄBEK, EWA SŁOTA

Dział Immuno- i Cytogenetyki Zwierząt Instytutu Zootechniki, ul. Krakowska 1, 32-083 Balice

Ząbek T., Słota E.

Bovine achondroplasia

Summary

Dwarfism is a frequently occurring congenital disorder in human and farm animals. Defects in endochondral ossification lead to disproportionate dwarfism with abnormal length of the limbs in relation to the size of the trunk. Based on observed skeleton abnormalities in general, a short- and long-limbed achondroplasia can be recognized. Short-headed dwarfism often relates to the latter ACH form and comprises a number of head deformities with a characteristic craniofacial shortening. Lethal cases with severe skeleton malformations occur when ACH is inherited in the homozygous recessive mode. A number of different ACH forms were described in Dexter, Holstein Fresian, Jersey, Aberdeen Angus, Hereford, Shorthorn and Japanese brown cattle. Only in the last mentioned breed two causative mutations have been detected causing ACH phenotype in the appendicular skeleton. Extensive efforts are being made to find mutations determining achondroplasia in other cattle breeds.

Keywords: dwarfism, achondroplasia, cattle

Karłowatość jest jednym z najczęstszych wrodzonych schorzeń u człowieka i zwierząt gospodarskich. Wspólną cechą zaburzeń powodujących powstawanie karłowatości jest duże zróżnicowanie pod względem fenotypu oraz typów dziedziczenia karłowatości, a także heterogenność nowo występujących mutacji. Przyczyną dziedzicznej i nie uwarunkowanej genetycznie karłowatości są zaburzenia w rozwoju kośćca w czasie embriogenezy. Zaburzenia w okresie kostnienia błoniastego są źródłem karłowatości z zachowanymi proporcjami budowy ciała. Z kolei zaburzenia w rozwoju szkieletu chrzęstnego (chondrodystrofia) prowadzą do karłowatości charakteryzującej się nieprawidłowym stosunkiem długości kończyn, w stosunku do wymiarów tułowia (6). Najwięcej spotykanych przypadków karłowatości dotyczy jej formy nieproporcjonalnej, chondrodystroficznej. Dziedzicznie przekazywana achondroplazja (ACH) występuje u bydła (OMIA 000004 i 000005), psów, kotów, królików, owiec (OMIA 000004), kóz (OMIA 000005) i drobiu (OMIA 000006) oraz u człowieka (OMIM 100800).

Achondroplazja to defekt w procesie kostnienia śródchrzęstnego, którego podstawową cechą jest skrócenie kończyn w wyniku zaburzeń wzrostu trzonów kości długich. Wielkość nasad kości długich jest względnie normalna. W obrazie mikroskopowym wycinków chrząstki nasadowej chorych osobników charakterystyczna jest obecność licznych zdegenerowanych i nieregularnie rozmieszczonych chondrocytów oraz nieprawidłowości w budowie macierzy poza-

komórkowej chrząstki, wynikające z wadliwych interakcji między glikoproteinami występującymi na powierzchni chondrocytów a włóknami kolagenowymi i proteoglikanami macierzy pozakomórkowej (6, 13, 14). Achondroplastyczne zmiany kostne obejmują również powiększoną głowę z nadmiernie wysklepioną czaszką oraz skróconą i spłaszczoną część trzewną czaszki. Obserwowane są również defekty szkieletu osiowego w postaci skrócenia kręgosłupa i deformacji jego elementów kostnych oraz zwężenia otworów międzykręgowych (8, 12).

Przegląd fenotypów achondroplazji u różnych ras bydła

Achondroplastyczna karłowatość była obserwowana u bydła rasy dexter, bydła holsztyńskiego, jersey, aberdeen angus, hereford i shorthorn oraz japońskiego bydła brązowego. Achondroplazja u heterozygotycznych osobników (Dx+/-) bydła dexter dziedziczy się w formie dominującej z niepełną penetracją genu, gdyż nie ujawnia się u wszystkich heterozygot. Achondroplazja odziedziczona w układzie homozygotycznym (Dx+/+) u bydła tej rasy jest formą letalną, wywołującą deformację szkieletu, a diagnozowane płody określane są jako „ciełeta buldogowate” (6, 20). Wrodzoną śmiertelną formę chondrodysplazji badano u dwóch samiczych płodów rasy dexter, ekstremalnie zdeformowanych, które zmarły w połowie bądź późnym okresie ciąży. Cechy tej formy achondroplazji obejmowały silne skrócenie kończyn w stosunku do

długości tułowia, krótki kręgosłup, dużą głowę z cofniętą trzewioczaszką oraz rozszczep podniebienia. Obecność nieproporcjonalnie dużych organów (język, płuca i wnętrzności jamy brzusznej) oraz rozległa przepuklina brzuszna wskazywały na prawidłowy rozwój tkanek miękkich w stosunku do zaburzonego wzrostu wymienionych elementów kośćca (6).

Scharakteryzowano także niedziedziczną formę bydłęcej achondroplazji, fenotypowo zbliżonej do letalnego typu u homozygot bydła dexter. W opisanym przypadku spontaniczna mutacja była przyczyną wad szkieletu obwodowego u buhaja, którego rodzice byli normalnych rozmiarów (11). Pokrewna forma achondroplazji występuje również u bydła telemark w Norwegii, jednak dziedziczona jako autosomalna recesywna cecha ma znacznie łagodniejszy przebieg. Karły bydła rasy telemark posiadają skróconą głowę, wysklepioną czaszkę, zdeformowane szczęki, rozszczep podniebienia oraz krótkie, masywne i wykręcone kończyny, które nie są w stanie utrzymać ciężaru ciała (4). W łagodniejszej postaci schorzenia osobniki homo- i heterozygotyczne nie różnią się pod względem fenotypu. Chore cielęta rodzą się żywe, ale padają w ciągu kilku dni z powodu paralizu oddechowego, w wyniku wymuszonego przebywania w pozycji leżącej. Ze względu na obserwowane zmiany szkieletu kończyn typ achondroplazji u bydła telemark i dexter określono również jako achondroplazję „krótko-kończynową” (short-limbed) (6).

Inną, bardziej łagodną formą chondrodystroficznej karłowatości jest achondroplazja u bydła ras jersey (1), holsztyńsko-fryzyskiej (2), hereford (8, 9) i angus (12). Recesywny charakter dziedziczenia tej formy ACH stwierdzono po przeprowadzonych krzyżówkach wstecznych z udziałem heterozygotycznych buhajów i ich córek u holsztyńsko-fryzów (2) oraz po przeprowadzonych kjojarzeniach w grupach pół-rodzeństwa u fryzów brytyjskich (7). Charakterystyczną cechą tej formy ACH jest brachycefalia, która obejmuje deformację szczęki górnej i kości nosowej oraz kości czołowej (2).

Porównawcze obserwacje anatomii czaszek osobników zdrowych i krótkogłowych (short-headed) karłów rasy hereford wykazały, że dla osobników chorych charakterystyczne było przedwczesne tworzenie się chrząstkozrostów klinowo-potylicznych (w pierwszym tygodniu życia), w porównaniu do osobników normalnych, u których zamknięcie się tych struktur występuje między 24. a 36. miesiącem życia (8, 9). Nieprawidłowe proporcje między wielkością głowy i mózgu oraz tworzące się wodogłowie powodowały silne wybrzuszenie czoła. Charakterystyczne deformacje okolic głowy obejmowały skrócenie trzewioczaszki i wysunięcie szczęki oraz deformację kości nosowej, utrudniającą oddychanie (8). U krótkogłowych karłów rasy amerykański angus obserwowano również zmiany w budowie kręgow, obejmujące anomalie budowy trzonów i wyrostków poprzecznych kręgow (12). Scharakteryzowano również subletalną formę ACH u krótkogłowych karłów rasy jersey z chowu wsobnego (4).

Obserwowana anomalia u badanych cieląt tej rasy miała największy wpływ na rozwój kośćca czaszki i szczęki, natomiast znikomy na wymiary elementów kostnych szkieletu obwodowego. Chore cielęta miały skróconą i szeroką głowę oraz rozszczep podniebienia. Typ charakterystyczny dla bydła jersey określono również jako achondroplazję „długo-kończynową” (long-limbed), gdyż w opisanych przypadkach skrócenie kończyn było nieznaczne i trudne do diagnozowania. W celu opracowania testu diagnostycznego dla tej formy achondroplazji przeprowadzono porównawcze pomiary szkieletu kończyn między zdrowymi i chorymi osobnikami bydła hereford (19). Stwierdzono największe różnice w długości trzonów kości śródreżca, a zależności między całkowitą długością kości śródreżca a długością i średnicą jej trzonu zostały wytypowane jako najbardziej przydatne cechy do diagnozowania achondroplazji u krótkogłowych karłów (19).

Zupełnie odmienny typ achondroplazji został zidentyfikowany u japońskiego bydła brązowego, którego dziedziczenie ma charakter recesywny. Przy typowym dla achondroplazji skróceniu kończyn i nieprawidłowościach w budowie stawów, u chorych osobników japońskiego bydła brązowego struktury szkieletu osiowego oraz szkielet trzewioczaszki nie miały zmian chorobowych (13).

Część obserwowanych przypadków achondroplazji płodów bydłecych jest również wiązana z niedoborami żywieniowymi w okresie ciąży oraz obecnością toksyn wydzielanych przez patogenne drobnoustroje w psującej się paszy, którą skarmiane są cielne krowy (3, 15). Opisywano przypadki chondrodysplastycznej karłowatości w połączeniu z nadmierną wiotkością ścięgien w śródreżcu i śródstopiu u cieląt, których matki w okresie ciąży były żywione wyłącznie kiszonką (3). Zubożenie składników pokarmowych w diecie ciężarnych krow prowadziło do zaburzeń rozwoju chrząstki płodów, których główną przyczyną był niedobór manganu. Efektem było typowe dla achondroplazji skrócenie kości ramieniowych i kości udowych u cieląt oraz szeroka i spłaszczona czaszka. W przeciwieństwie do dziedzicznych form achondroplazji, opisywane przypadki występowały okresowo w większych stadach bydła, a leczenie cieląt z lżejszymi objawami dawało pozytywne rezultaty (3).

Poszukiwania genetycznych uwarunkowań bydłęcej achondroplazji

Pierwsze podjęte próby analizy genetycznego podłoża wrodzonej chondrodysplazji bydłęcej polegały na krzyżowaniu chorych osobników różnych ras, obciążonych różnymi typami achondroplazji (5). Wyniki tych badań wskazywały na istnienie określonej stałej grupy genów warunkujących wszystkie testowane fenotypy karłowatości. Z kolei duże zróżnicowanie

fenotypów achondroplazji u bydła mogło wynikać z modyfikacji poszczególnych genów. Próby poznania molekularnego podłoża bydłowej achondroplazji zaczęto prowadzić wiele lat później, kiedy dysponowano już wyrafinowanymi metodami z zakresu biologii molekularnej.

Pierwszą próbę identyfikacji mutacji warunkujących bydłową chondrodysplazję (BCD) podjęto u bydła dexter (20). W grupie zdrowych i chorych osobników rasy dexter zsekwencjonowano bydłowy wariant regionu transmembranowego ludzkiego genu FGFR3, którego mutacje są przyczyną ludzkiej chondrodystrofii. Sekwencje w obu grupach zwierząt były jednak identyczne i dlatego mutacja w *locus* FGFR3 została wykluczona jako przyczyna karłowatości u bydła dexter.

Udane badania nad molekularnymi uwarunkowaniami bydłowej achondroplazji przeprowadzili badacze japońscy, w rasie brązowego bydła japońskiego (16, 17, 21). Przy zastosowaniu różnych technik mapowania genów, obejmujących, między innymi, analizę sprzężeń markerów mikrosatelitarnych w rodzinach obciążonych chorobą, region z *locus* warunkującym powstawanie bydłowej achondroplazji został zlokalizowany na dystalnym końcu bydłowego chromosomu 6 (BTA6q21) (16, 21). Badania ekspresji genów w tkance kości długich pobranej od płodów bydłowych, ujawniły ekspresję jednej z sekwencji kodujących, zidentyfikowanych w regionie BTA6q21. Zidentyfikowana sekwencja była ortologiem jednego z ludzkich genów zlokalizowanych na 4 chromosomie człowieka (HSA 4p16 i 4q21), których mutacje warunkują wiele chondrodystrofii u ludzi (16). Zidentyfikowaną sekwencję oznaczono jako „limbin” (LBN), a jej sekwencjonowanie w materiale genetycznym, pochodzącym od zdrowych i chorych cieląt japońskiego bydła brązowego, ujawniło dwie mutacje. Jedna to tranzycja C na T w 1356 pozycji nukleotydowej (nt) sekwencji genu LBN, a druga to substytucja CA na G w pozycji 2054-2055 nt (2054-2055delCAinsG). Obie mutacje powodują nieprawidłowe składanie sekwencji transkryptu, czego efektem jest przedwczesna terminacja transkrypcji w *locus* LBN. Pociąga to za sobą skrócenie białkowego produktu genu LBN. Mutacji w *locus* LBN nie odnotowano u osobników należących do innych ras bydła ujętego w doświadczeniu (bydło holsztyńskie i japońskie czarno-białe) (16). Podobnie rezultaty badań nad przypadkami achondroplazji u amerykańskich angusów nie wykazały mutacji LBN (12). Analiza sekwencji produktów PCR w regionach obu mutacji LBN wykazała, że chore cielęta innych ras bydła posiadały allele typu dzikiego dla tranzycji C1356T i substytucji 2054/2055CAinsG.

Zespół badaczy japońskich, kontynuując badania nad regionem chromosomu BTA6q21 obejmującego *locus* BCD, zidentyfikował grupę nowych markerów mikrosatelitarnych, które wykorzystali do zbudowania fizycznej mapy regionu BTA6. Uzyskana mapa kontigów pokrywających region BTA6 ma służyć do dal-

szych eksperymentów nad klonowaniem pozycyjnym *locus* warunkującego bydłową achondroplazję (17).

Piśmiennictwo

1. Becker R. B., Neal F. C., Wilcox C. J.: Prenatal achondroplasia in a Jersey. J. Dairy. Sci. 1969, 52, 1122-1123.
2. Bowden D. M.: Achondroplasia in Holstein-Friesian cattle. J. Hered. 1970, 61, 163-164.
3. Cebra C. K., Cebra M. L., Ikede B. O.: Congenital joint laxity and disproportionate dwarfism in a herd of beef cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1999, 215, 519-521.
4. Gregory P. W., Mead S. W., Regan W. M.: A new type of achondroplasia in cattle. J. Hered. 1942, 33, 317-322.
5. Gregory P. W.: Phenotypic forms and the genetic relationships of the bovine dwarf complex. J. Anim. Sci. 1956, 15, 1207.
6. Harper P. A., Latter M. R., Nicholas F. W., Cook R. W., Gill P. A.: Chondrodysplasia in Australian Dexter cattle. Aust. Vet. J. 1998, 76, 199-202.
7. Jones T. H., McClintock A. E., Smith G. F., Williams G.: Achondroplasia in British Friesians. Vet. Rec. 1978, 102, 404.
8. Julian L. M., Tyler W. S., Gregory P. W.: Systematic studies on the anatomical expression of bovine dwarfism. J. Anim. Sci. 1956, 15, 1208.
9. Julian L. M., Tyler W. S., Gregory P. W.: The current status of bovine dwarfism. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1959, 135, 104-109.
10. Julian L. M., Tyler W. S., Hage T. H., Gregory P. W.: Premature closure of the spheno-occipital synchondrosis in the horned Hereford dwarf of the „short-headed” variety. Am. J. Anat. 1957, 100, 269-288.
11. Mead S. W., Gregory P. W., Regan W. M.: A recurrent mutation of dominant achondroplasia in cattle. J. Hered. 1946, 37, 183-188.
12. Mishra B. P., Reecy J. M.: Mutations in the limbin gene previously associated with dwarfism in Japanese brown cattle are not responsible for dwarfism in the American Angus breed. Anim. Genet. 2003, 34, 311-312.
13. Moritomo Y., Ishibashi T., Miyamoto H.: Morphological changes of epiphyseal plate in the long bone of chondrodysplastic dwarfism in Japanese brown cattle. J. Vet. Med. Sci. 1992, 54, 453-459.
14. Naito K., Maruyama M., Dobashi K., Tanimura N., Kimura K., Haritani M., Nakajima Y.: Congenital chondrodysplastic dwarfism with dyshematopoiesis in a holstein calf. J. Vet. Med. Sci. 2002, 64, 937-939.
15. Proulx J. G., Ribble C. S.: Congenital joint laxity and dwarfism in a beef research herd. Can. Vet. J. 1992, 33, 129-130.
16. Takeda H., Takami M., Oguni T., Tsuji T., Yoneda K., Sato H., Ihara N., Itoh T., Kata S. R., Mishina Y., Womack J. E., Moritomo Y., Sugimoto Y., Kunieda T.: Positional cloning of the gene LIMBIN responsible for bovine chondrodysplastic dwarfism. Proc. Natl Acad. Sci. USA 2002, 99, 10549-10554.
17. Takeda H., Sugimoto Y.: Construction of YAC/BAC contig map for the BTA 6q21 region containing a locus for bovine chondrodysplastic dwarfism. Anim. Biotechnol. 2003, 14, 51-59.
18. Tyler W. S., Julian L. M., Gregory P. W.: Identification of the process responsible for the short-headed Hereford dwarf based on anatomical studies. J. Anim. Sci. 1956, 15, 1208.
19. Tyler W. S., Julian L. M., Gregory P. W.: Bovine achondroplasia. III. Standards of metacarpal indexes for achondroplastic brachycephalic dwarfs and control. Am. J. Vet. Res. 1961, 22, 693-697.
20. Usha A. P., Lester D. H., Williams J. L.: Dwarfism in Dexter cattle is not caused by the mutations in FGFR3 responsible for achondroplasia in humans. Anim Genet. 1997, 28, 55-57.
21. Yoneda K., Moritomo Y., Takami M., Hirata S., Kikukawa Y., Kunieda T.: Localization of a locus responsible for the bovine chondrodysplastic dwarfism (bcd) on chromosome 6. Mamm. Genome 1999, 10, 597-600.

Adres autora: dr inż. Tomasz Ząbek, Masłomiąca 156, 32-091 Michałowice; e-mail: tzabek@izoo.krakow.pl