

# ESTUDIO DE MUTACIONES PUNTUALES EN EL GEN DE RESISTENCIA MÚLTIPLE A DROGAS EN CANINOS DE URUGUAY

STUDY OF POINT MUTATIONS IN MULTIDRUG RESISTANCE GENE IN DOGS FROM URUGUAY

Gagliardi R.<sup>1\*</sup>, Llambí S.<sup>1</sup>, Arruga M.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Área Genética, Facultad de Veterinaria, UdelaR. Montevideo, Uruguay. \*rgagliar@gmail.com

<sup>2</sup>Laboratorio de Citogenética y Genética Molecular, Facultad de Veterinaria, UniZar, Zaragoza, España

**Keywords:** Cimarron Uruguayo; MDR1 gene; SNPs.

**Palabras clave:** Cimarrón Uruguayo; gen MDR1; SNPs.

## Abstract

The interaction between the products of different genes and drugs used in Veterinary is being studied in order to determine the most appropriate medical treatment for the individual patient. As these genes are conserved among species, dogs could be model of what occurs in humans. The *MDR1* gene has been extensively studied in dogs given its association with difficulties when using drugs such as ivermectin and chemotherapeutics. Blood-brain barrier is one of the places in which it is expressed, avoiding drugs get in the central nervous system. The “Cimarron Uruguayo” is the only dog breed native from Uruguay. These animals are used basically in guard, defense and work with livestock. As the number of breeders has increased, it is of interest to increase the number of studies in this breed. The aim of this paper is to analyze, in the canine breed “Cimarron Uruguayo” five SNPs described for *MDR1* gene and compare their frequencies with those obtained in the German Shepherd breed. Thirty animals per breed were studied. DNA extraction using ammonium acetate was performed. Samples were sent to the service GeneSeek, Lincoln, Nebraska, USA in order to be genotyped. According to the results, four of the five analyzed SNPs were monomorphic in the German Shepherd meanwhile in the “Cimarron Uruguayo”, none of them was. Given these results, and the characteristics of both breeds, it is considered of interest to expand the sample for each one, and study the association of these SNPs with differences in drug response.

## Resumen

La interacción entre los productos de diferentes genes y fármacos empleados en la Clínica Veterinaria, se está estudiando con el fin de poder determinar el tratamiento médico más indicado para cada paciente en particular. Por otra parte, al ser genes conservados entre diferentes especies, interesa usar al canino como modelo de lo que puede ocurrir en humanos. Entre estos genes, el gen *MDR1* (*ABCB1*) ha sido ampliamente estudiado en caninos dada su asociación con dificultades al momento de emplear fármacos como: el antiparasitario ivermectina y antitumorales. Este gen, normalmente se expresa en diferentes tejidos del organismo, entre los que se encuentra la barrera hemato-encefálica, donde su producto (glucoproteína-P) impide que diferentes sustancias ingresen hacia el sistema nervioso central. La presencia de mutaciones puede modificar su función de transporte. El perro Cimarrón Uruguayo es la única raza canina autóctona de Uruguay, habiendo sido reconocido como tal a principios de 2011. Estos animales son empleados en la ciudad básicamente en guarda y defensa mientras que en el medio rural, trabajan con ganado mayor. Estos elementos han hecho que el número de criadores haya ido en aumento, haciendo que sea necesario una mayor cantidad de estudios con el fin de conocer la raza. El objetivo de este trabajo es analizar, en la raza canina Cimarrón Uruguayo, cinco SNPs descritos para el gen *MDR1* y comparar sus frecuencias con las obtenidas en la raza Pastor Alemán. Para ello se estudiaron treinta animales por raza. Se realizó la extracción de ADN empleando acetato de amonio. Las muestras se enviaron a genotipar al servicio *GeneSeek*, Lincoln, Nebraska, EEUU. De acuerdo a los resultados obtenidos, cuatro de los cinco SNPs analizados fueron monomórficos en las muestras estudiadas de Pastor Alemán mientras que en las de Cimarrón Uruguayo, ninguno de ellos lo fue. Dados estos resultados, y las características de ambas razas es que se considera de interés ampliar la muestra estudiada para cada raza, y realizar estudios de asociación de estos SNPs con diferencias en la respuesta a fármacos.

## Introducción

En la Clínica Veterinaria interesa conocer los posibles efectos de un tratamiento médico particular, con el fin de obtener los mayores beneficios para el paciente. Esto ha llevado a que se estudie la interacción entre los productos de diferentes genes y los fármacos empleados en un tratamiento determinado. Por otra parte, al tratarse de genes conservados entre diferentes especies, estas se emplean como modelo de lo que puede ocurrir en humanos. Esto sucede en particular con el canino. El gen *MDR1* (*ABCB1*) ha sido ampliamente estudiado en estos animales dada su asociación con dificultades al momento de emplear fármacos como: el antiparasitario ivermectina, y antitumorales. Este gen, normalmente se expresa en diferentes tejidos del organismo, entre los que se encuentra la barrera hemato-encefálica. La glucoproteína-P, producto del gen *MDR1*, impide que diferentes sustancias ingresen hacia el sistema nervioso central (SNC) (Neff *et al.*, 2004; Mealey *et al.*, 2001). La presencia de mutaciones en el gen puede modificar su función, permitiendo el ingreso de diversas sustancias al SNC. El perro Cimarrón Uruguayo es la única raza canina autóctona de Uruguay, habiendo sido reconocido como tal a principios de 2011. Estos animales son empleados en la ciudad básicamente en guarda y defensa mientras que en el medio rural, trabajan con ganado mayor. Estos elementos han hecho que el número de criadores haya ido en aumento, haciendo que sea necesario una mayor cantidad de estudios con el fin de conocer la raza (Gagliardi *et al.*, 2013). El perro Ovejero Alemán (Pastor Alemán) se encuentra ampliamente difundido en Uruguay, cumpliendo funciones de guarda, defensa, compañía (<http://www.kcu.com.uy>). Estos animales han sido fuertemente seleccionados por criadores. El objetivo de este trabajo es analizar, en la raza canina Cimarrón Uruguayo, cinco SNPs descritos para el gen *MDR1* y comparar sus frecuencias con las obtenidas en la raza canina Pastor Alemán.

## Material y métodos

Se estudiaron treinta caninos de la raza Cimarrón Uruguayo y treinta de la raza Ovejero Alemán. Se les extrajo sangre de la vena antebraquial en condiciones de asepsia, en presencia del propietario de los animales. A partir de estas muestras sanguíneas se realizó la extracción de ADN empleando acetato de amonio, diluyendo el ADN obtenido en buffer TE (tris-EDTA), la concentración y la calidad del mismo se evaluó en el nanodrop ND1000. Una vez obtenidas, las muestras se enviaron a genotipar al servicio *GeneSeek*, Lincoln, Nebraska, EEUU. Para analizar los resultados de los genotipos obtenidos se empleó el programa GenePop, de distribución libre. Se analizaron las frecuencias de cada uno de los SNPs estudiados: ABCB1 A\_G, ABCB1 A\_T, ABCB1 A\_G1, ABCB1 A\_G2, ABCB1 G\_T.

**Tabla I.** Frecuencias de cada SNP en cada raza (*Frequencies of each SNP per breed*).

	Frecuencias alélicas		
ABCB1 A_G	C	A: 0,879	G: 0,121
	OA	A: 1	G: 0
ABCB1 A_T	C	A: 0,017	T: 0,983
	OA	A: 0,224	T: 0,776
ABCB1 A_G1	C	A: 0,138	G: 0,862
	OA	A: 0	G: 1
ABCB1 A_G2	C	A: 0,862	G: 0,138
	OA	A: 1	G: 0
ABCB1 G_T	C	G: 0,138	T: 0,862
	OA	G: 0	T: 1

C: Cimarrón; OA: Ovejero Alemán

## Resultados

De acuerdo a los resultados obtenidos, cuatro de los cinco SNPs analizados fueron monomórficos en las muestras estudiadas de Pastor Alemán mientras que en las de Cimarrón Uruguayo, ninguno de ellos lo fue. En la tabla I se muestran las frecuencias alélicas para cada caso. El SNP ABCB1 A\_T presenta un comportamiento diferente a los demás, donde en la raza Ovejero Alemán aparece una frecuencia mayor de la variante A que en el Cimarrón, el que se encuentra muy próximo a ser monomórfico para la variante T de este SNP.

## Conclusiones

De los cinco SNPs estudiados, en la raza canina Ovejero Alemán, cuatro fueron monomórficos, mientras que en el Cimarrón Uruguayo ninguno lo fue. Estas diferencias en los SNPs estudiados pueden deberse, entre otros puntos, a las diferencias en la selección sufrida por ambas razas. Estas diferencias podrían estar asociadas a diferencias en la respuesta a tratamientos farmacológicos.

## Bibliografía

- Mealey KL, Bentjen SA, Gay JM, Canthor GH. 2001 Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the MDR1 gene. *Pharmacogenetics*; 11:727-733
- Neff MW, Robertson KR, Wong AK, Safra N, Broman KW, Slatkin M, Mealey KL, Pedersen NC. 2004 Breed distribution and history of canine *mdr1-1Δ* a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breed from the collie lineage. *Proc Nat Acad Sci*; 101:11725-11730.
- Gagliardi R, García C, Llambí S, Arruga MV. 2013 Analysis of *mdr1-1Δ* mutation of MDR1 gene in the “Cimarron Uruguayo” dog. *Rev. MVZ Córdoba*; 18(2):3480-3483.
- <http://www.kcu.com.uy>