

## **Esterilidad de las Terneras Nacidas de Parto Gemelar con un Ternero (Síndrome Freemartin)**

*Ayala-Valdovinos MA<sup>1</sup>, Villagómez DAF<sup>1</sup>, Galindo-García J<sup>2</sup>, Sánchez-Chiprés DR<sup>3</sup>.*

*<sup>1</sup>Depto Medicina Vet. <sup>2</sup>Depto. Salud Pública y <sup>3</sup>Depto Prod. Animal, CUCBA, Univ. de Guadalajara.*

### **Introducción**

Una ternera freemartin es una hembra concebida en una gestación múltiple (*v. gr.*, gemelos, triates, etc.) con un macho. Como consecuencia de este tipo de gestación, en más del 90% de ocasiones se establece una comunicación de vasos sanguíneos entre las placentas de los fetos gemelos entre los 30 y 40 días de gestación (Fig. 1), originando un intercambio de células (quimerismo hematopoyético) y sustancias plasmáticas como hormonas, que conllevan al nacimiento de una ternera estéril e intersexual (freemartin).



**Figura 1.** Anastomosis vascular placentaria de fetos bovinos (Tomado de Robert A. Foster, Department of Pathobiology, Ontario Veterinary College, University of Guelph).

El síndrome freemartin no es heredable, pero la propensión a engendrar gemelos sí lo es, siendo la incidencia variable entre las razas bovinas (*v. gr.*, Simmental del 2.4% al 4.6%, Holstein-Friesian del 0.5% al 4.2% y Charolais del 2.5% al 3.2%). Además, la mayoría de los partos gemelares son dicigóticos (gemelos no idénticos), y sólo entre el 2% al 10% son monocigóticos (gemelos idénticos). Por otra parte, los partos gemelares son menos frecuentes en las razas del ganado cebú (*Bos indicus*; 0.22%) que en el ganado de origen europeo (*Bos taurus*).

La frecuencia de síndrome freemartin ha sido estimada en 92% de los partos gemelares heterosexuales (macho y hembra) del bovino; sin embargo, pueden producirse en partos múltiples de más de dos productos si por lo menos un individuo macho está presente. Las freemartin también pueden producirse en nacimientos de hembras únicas, como consecuencia de la muerte fetal precoz y reabsorción del gemelo macho en el útero después del establecimiento de la anastomosis vascular y del tiempo de la diferenciación sexual.

### **Técnicas de diagnóstico del síndrome freemartin en bovinos**

Las técnicas básicas tradicionalmente empleadas para el diagnóstico del síndrome freemartin han sido: la examinación clínica; la prueba de tolerancia de homoinjerto; la prueba de tipos sanguíneos; y el análisis citogenético. Sin embargo, actualmente la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) nos ofrece una herramienta útil para el diagnóstico preciso y oportuno de esta patología.

## **Examen Clínico**

En el freemartin hay algunos signos clínicos especialmente concernientes a los órganos genitales, sin embargo, algunas veces la apariencia de los órganos genitales externos de la ternera recién nacida es relativamente normal.

En vaquillas de aproximadamente 1 año de edad, se puede establecer el marcado arresto en el desarrollo de la vagina, cérvix, útero y gónadas. En los animales más jóvenes donde es imposible la examinación rectal, se debe insertar un tubo-prueba lubricado de  $\frac{1}{2}$  a  $\frac{3}{4}$  de pulgada vía vaginal, en vaquillas de 3 - 6 semanas de edad la longitud de la vagina en las freemartins es de  $7.4 \pm 2.5$  cm. En terneras normales de la misma edad esta longitud es de  $14 \pm 2.8$  cm. En una vaca la longitud normal de la vagina es de 30 cm., mientras en una freemartin sólo es de 8 - 10 cm. y la examinación rectal confirmará la ausencia de cérvix. Algunas veces la freemartin presenta elongación del clítoris y una borla de pelos en la comisura inferior de la vulva, características inconsistentes no muy confiables.

## **Prueba de Tolerancia a Homoinjerto**

Si la anastomosis vascular toma lugar entre los gemelos, éstos tendrán una mezcla de células sanguíneas (quimerismo hematopoyético). En el caso de partos gemelares de macho y hembra en el bovino, este quimerismo permite el diagnóstico del posible freemartinismo de la ternera, ya que ambos presentarán los mismos antígenos de superficie y por lo tanto serán altamente tolerantes al transplante de piel del cogemelo. Sin embargo, la prueba de tolerancia de homoinjerto es complicada y el macho gemelo no siempre esta disponible, por lo que una prueba de laboratorio es necesaria.

## **Análisis de Grupos Sanguíneos**

Dado que en la anastomosis vascular entre gemelos dicigóticos, ambos tendrán dos poblaciones de eritrocitos con diferente juego de antígenos de superficie. Esto puede ser detectado por prueba de hemólisis usando una serie de reactivos de grupos sanguíneos específicos. Una suspensión de células mostrará sólo hemólisis parcial para un reactivo, con el cual cada uno debería normalmente completar hemólisis o no tener reacción para un ternero nacido único. Con anastomosis vascular los determinantes antigénicos de los grupos sanguíneos de las células rojas de ambos terneros están presentes en cada uno de los gemelos.

## **Análisis Citogenético**

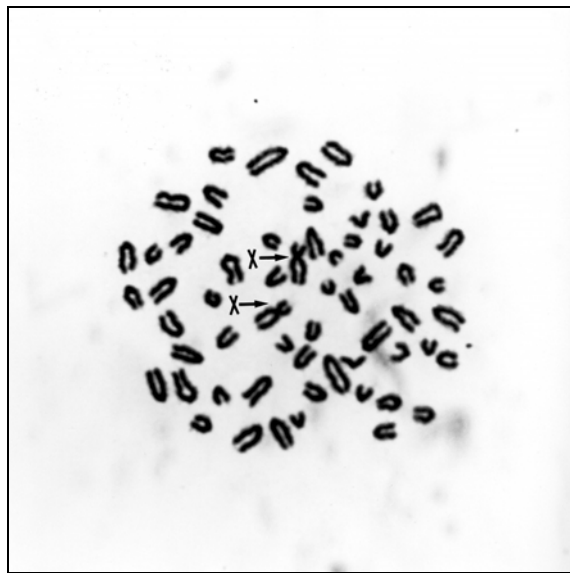
Aunque el estudio de tipos sanguíneos había sido usado como diagnóstico de rutina del freemartin, fue reemplazado por el análisis citogenético para la identificación de los cromosomas sexuales.

En el método citogenético para el diagnóstico de freemartinismo se observa la posible condición quimérica (XX/XY) en cualquiera de los gemelos heterosexuales (Figura 2 A-B), sin embargo, lo recomendable es muestrear a ambos gemelos ya que el porcentaje de células tiende a ser similar en ambos, es decir, cuando la hembra tiene casi enteramente células XX, el macho estará muy similar en su proporción de células con complemento cromosómico XY. Estadísticamente 90 células XX tienen que ser contadas antes de que uno pueda estar 99% seguro de que no hay células XY presentes en la hembra en un nivel del 5%.

## **Análisis Molecular (PCR)**

Recientemente la invención de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y el uso de secuencias específicas de DNA del cromosoma Y, constituyen un significativo avance en la detección de freemartins, en especial cuando la ternera tiene pocas células con complemento cromosómico XY, ya que la PCR es un método *in vitro* altamente sensible que permite producir grandes cantidades (millones o billones) de copias exactas de un fragmento de DNA específico de longitud definida a partir de pequeñas cantidades de DNA.

Con la técnica de PCR el diagnóstico de síndrome freemartin se obtiene rápidamente (6h), sólo se requiere un volumen pequeño de sangre, las muestras que han sido conservadas por varios días en el refrigerador y aun contaminadas con microorganismos, dan resultados exactos, además, si no hay tubos disponibles con EDTA o heparina, las gotas de sangre pueden ser preparadas y amplificadas posteriormente permitiendo obtener un diagnóstico preciso y oportuno.

**A****B**

**Figura 2 A-B.** Fotografía de células en metafase mostrando el complemento cromosómico sexual de una freemartin. Nótese la presencia de cromosomas XX (Figura A) y cromosomas XY (Figura B). (Tomado de Ayala-Valdovinos y col. Vet. Méx., 31 (4) 2000.