

# Polymorphisme de la purine nucléoside phosphorylase érythrocytaire bovine

par R. QUEVAL et L. BAMBARA

Centre de Recherches sur les Trypanosomoses Animales, B.P. 454, Bobo-Dioulasso, Burkina.

## RÉSUMÉ

QUEVAL (R.), BAMBARA (L.). — Polymorphisme de la purine nucléoside phosphorylase érythrocytaire bovine. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1984, 37 (3) : 308-312.

La distribution de variants électrophorétiques de la purine nucléoside phosphorylase (N.P.) contrôlée par deux allèles NP.H et NP.L a été étudiée sur des hémolysats bovins appartenant à des populations autochtones de zébus ou de taurins (race Baoulé) et à des croisements taurins N'Dama × Baoulé.

L'électrophorèse a été réalisée sur acétate de cellulose et l'activité enzymatique mise en évidence par la méthode de EDWARDS *et al.* (1971).

Le présent travail montre que dans une population en équilibre biologique, les zébus ont une fréquence allélique NP.H égale à 0,4595 qui n'est pas significativement supérieure à celle de la race Baoulé. Cette population taurine Baoulé présente la fréquence la plus élevée (0,3898) parmi les diverses autres races de taurins. La fréquence du phénotype NP.H semble croître des zones tempérées aux zones tropicales.

**Mots clés :** Purine nucléoside phosphorylase - polymorphisme - érythrocytes - bovins - électrophorèse - acétate de cellulose.

## SUMMARY

QUEVAL (R.), BAMBARA (L.). — Polymorphism of purine nucleoside phosphorylase from bovine erythrocytes. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1984, 37 (3) : 308-312.

The distribution of electrophoretic variants of purine nucleoside phosphorylase (N.P. E.C.2.4.2.1) controlled by the alleles NP.H and NP.L was determined on erythrocyte lysates from Zebu, Baoulé and N'Dama/Baoulé cross cattle.

Electrophoresis was performed on cellulose acetate and NP revealed by the method of EDWARDS *et al.* (1971). Zebus had a NP.H gene frequency which was slightly higher, but not significantly so ( $X^2$ , test) than Baoulés (0.4595 vs 0.3898). Both populations were in equilibrium. There appears to be a gradient of increased NP.H frequency in cattle from Northern Europe to the tropics.

**Key words :** Purine nucleoside phosphorylase - Polymorphism - Erythrocytes - Electrophoresis - Cellulose acetate.

## I. INTRODUCTION

La purine nucléoside phosphorylase (N.P. ; E.C.2.4.2.1.) présente dans de nombreux tissus catalyse le clivage phosphorolytique des nucléosides puriques (9). Chez l'homme, EDWARDS *et al.* (8) ont montré que cette enzyme favorise, dans les érythrocytes, la conversion de l'inosine en xanthine. Les travaux de ANSAY et HANSET (6) et ANSAY (4)

chez les bovins montrent qu'il existe trois phénotypes de la purine nucléoside phosphorylase : le plus commun est une simple bande très fine migrant loin en avant de l'hémoglobine ; le second est une grosse tache s'étalant à partir de l'hémoglobine, enfin le troisième phénotype possède une grande activité enzymatique et sa mobilité électrophorétique est légèrement plus anodique. Les trois allèles contrôlant ces variants sont appelés : NP<sup>L</sup>, NP<sup>HF</sup> et NP<sup>HS</sup>.

## II. TRAVAUX ANTÉRIEURS

Des études électrophorétiques relatives au polymorphisme de la purine nucléoside phosphorylase ont été également réalisées par BRIUGA *et al.* (7) sur des échantillons musculaires de bovins marocains de type « Brune de l'Atlas ». Le phénotype NP.H présente un pourcentage particulièrement élevé (54,4 p. 100) par rapport à d'autres races bovines. Ce pourcentage semble augmenter des zones tempérées vers les zones tropicales et suggère une relation éventuelle avec une adaptation au milieu tropical.

MAHIN et MANNAD (10) ont également analysé la fréquence des phénotypes NP - H et NP - L de la purine nucléoside phosphorylase sur 536 bovins de races autochtones ou importées au Maroc.

## III. MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les investigations ont porté sur la distribution des phénotypes de la purine nucléoside phosphorylase dans 210 hémolysats de bovins mâles et femelles, de divers âges, appartenant soit à une population autochtone de zébus, soit à la race taurine locale Baoulé et se répartissant de la manière suivante :

- 94 taurins de race Baoulé,
- 89 zébus de type soudanien,
- 27 croisements N'Dama × Baoulé.

Les échantillons sanguins ont été recueillis sur E.D.T.A. disodique par voie intraveineuse. Les hémolysats sont obtenus après lavage, lyse, congélation et décongélation, puis enfin centrifugation. L'électrophorèse a été réalisée sur acétate de cellulose (Cellogel : Firme Chemetron, Milan ; Italie) en tampon véronal pH 8,6 et sous une tension de 240 volts pendant 90 minutes.

La composition du mélange de révélation (8,1) en tampon phosphate (50 mM) pH 8,2 est la suivante en concentrations finales :

Phénazine méthosulfate	(0.04 mg/ml)
MTT tétrazolium	(0.5 mg/ml)
Inosine	(1.80 mM )
Xanthine-Oxydase	(0.04 U/ml )

Les calculs des fréquences alléliques ont été effectués d'après les lois de l'équilibre panmixtique de HARDY-WEINBERG (1908).

## IV. RÉSULTATS

Par une séparation électrophorétique sur acétate de cellulose des hémolysats érythrocytaires, nous avons mis en évidence deux des trois variants de la purine nucléoside phosphorylase : le type « High » (H) caractérisé par une grosse tache (NP - H) et le type « Low » (L) figuré par une fine bande migrant en avant de l'hémoglobine.

La distribution des phénotypes NP - H et NP - L parmi les populations bovines locales est rapportée, en valeurs absolues et relatives dans le tableau I. La population bovine de zébus autochtones de type soudanien présente une fréquence élevée de phénotypes NP - H (70,8 p. 100). Cette fréquence est respectivement de 62,7 p. 100 et 40,7 p. 100 dans la race taurine Baoulé et les croisements taurins N'Dama × Baoulé. Le test de  $\chi^2$  ne montre pas de différence significative au seuil de 5 p. 100 ( $\chi^2 = 1,29$ ) pour le caractère et les populations étudiées (zébus et taurins).

Les fréquences de l'allèle NP - H calculées selon l'hypothèse de l'équilibre génétique, leur écart-type et leur intervalle de confiance sont colligés dans le tableau II. Ces fréquences alléliques sont de 0,3898 dans la race Baoulé et de 0,4595 chez les zébus.

TABL. N° I - Distribution des phénotypes NP-H et NP-L chez les bovins autochtones

Phénotypes	Taurins (Race Baoulé)		Z é b u s (Type soudanien)		Croisements Taurins (N'Dama × Baoulé)	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
NP-H	59	62,8	63	70,8	11	40,7
NP-L	35	37,2	26	29,2	16	59,2
Totaux	94		89		27	

TABLEAU N° II - Fréquences alléliques NP-H

	Taurins (Race Baoulé)	Z é b u s (Type Soudanien)	Croisements Taurins (N'Dama x Baoulé)
Nombre d'animaux	94	89	27
Nombre de phénotypes NP-H	59	63	11
Fréquence de l'allèle H	0,3898	0,4595	0,2300
Ecart-type	± 0,0350	± 0,037	± 0,057
Intervalle de confiance à 5 p.100	0,320 - 0,459	0,386 - 0,532	0,118 - 0,342

## V. DISCUSSION ET CONCLUSION

Les premières données relatives à la distribution du phénotype NP - H et de l'allèle H dans quatre races bovines exploitées en Belgique montrent que la race Charolaise présente une fréquence du phénotype électrophorétique NP - H de 44,6 p. 100 alors que cette même fréquence se chiffre respectivement à 13,3 ; 13,0 et 10,9 p. 100 dans les races Pie rouge campinoise, de Moyenne et Haute Belgique et la Frisonne, soit une moyenne de 12,8 p. 100 (6, 1).

Les fréquences phénotypiques de la NP - H observées par MAHIN et MANNAD (10) dans les races locales Brune de l'Atlas (54,4 p. 100 et Blonde Oulmes Zaer (27,2 p. 100) sont significativement différentes.

La distribution des phénotypes NP - H parmi les races bovines Brune suisse, Fleckvieh, Pie noire allemande et le croisement Brune de l'Atlas × Santa Gertrudis est respectivement de 40,0 ; 41,3 ; 10,0 et 42,5.

D'après les données de MAHIN et MAMMAD (10), les pourcentages, les fréquences estimées et les intervalles de confiance au seuil de 5 p. 100 ont été calculés et rassemblés dans le tableau III où les diverses races bovines sont groupées selon une classification phylogénétique établie sur une base biochimique.

L'analyse comparative entre les travaux antérieurs et le présent travail montre que les zébus et les taurins de race Baoulé ont une fréquence de l'allèle NP - H supérieure à celle des autres populations bovines. Cependant,

TABLE. N°III - Pourcentages et fréquences de la NP-H après classification phylogénétique de quelques races bovines

Groupes	Pourcentages	Fréquences estimées et écarts-types	Intervalles de confiance à 5 p.100
Races bovines de : Moyenne et Haute Belgique, Pie-Rouge Campinoise, Frisonne, Pie Noire allemande.	12,6	0,0655 ± 0,0058	0,054 - 0,077
Fleckvieh, Brune suisse, Blonde Oulmes Zaer.	30,27	0,1651 ± 0,0163	0,133 - 0,197
Charolaise	44,6	0,256 ± 0,0270	0,203 - 0,309
Brune de l'Atlas, Races autochtones marocaines.	54,4	0,3253 ± 0,0216	0,283 - 0,367

Source : MAHIN et MANNAD (1982).

statistiquement, aucune différence significative n'existe entre les populations zébus et les taurins Baoulé d'une part et entre ces dernières et la race Brune de l'Atlas ainsi que les populations bovines hétérogènes marocaines, d'autre part.

Ces résultats semblent confirmer l'hypothèse de BRIUGA *et al.* (7) selon laquelle les fréquences phénotypique et allélique du variant électrophorétique NP - H semblent croître des zones tempérées vers les zones tropicales (Fig. 1).

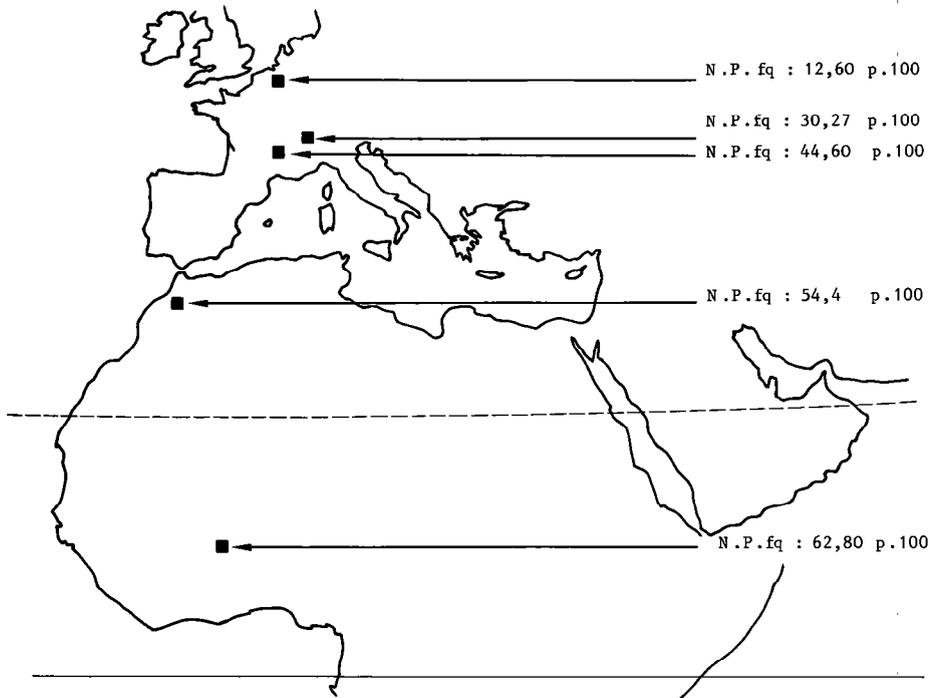


Fig. 1. — Fréquences (en p. 100) des phénotypes N.P - H de la purine nucléoside phosphorylase chez les taurins européens et africains.

## RESUMEN

QUEVAL (R.), BAMBARA (L.). — Polimorfismo de la purina nucleosida fosforilasa eritrocitaria bovina. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1984, 37 (3) : 308-312.

Se estudió la repartición de las variantes electroforeticas de la purina nucleosida fosforilasa comprobada por dos alelos N.P - H y N.P - I, sobre hemolisados de cebues o de taurinos (raza Baule) y de cruzamientos taurinos N'Dama x Baule.

Se realizó la electroforesis sobre acetato de celulosis y se evidenció la actividad enzimática por el método de Edwards.

Se muestra que los cebues tienen una frecuencia alélica NP - H de 0,4595 que no es significativamente superior a la de la raza Baule. Ésta presenta la frecuencia más elevada (0,3898) entre las varias otras razas de taurinos. La frecuencia del fenotipo NP - H parece crecer desde las zonas tempranas hasta las zonas tropicales.

**Palabras claves :** Purina nucleosida fosforilasa - Polimorfismo - Eritrocitos - Bovinos - Electroforesis - Acetato de celulosis.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ANSAY (M.). Variabilité génétique de la malate deshydrogénase mitochondriale (M.O.R.), de la transaminase glutamique oxalacétique cytoplasmique (G.O.T), de la phosphoglucomutase (P.G.M), de l'adénosine déaminase (A.D.A), de la purine nucléoside phosphorylase (N.P) dans l'espèce bovine. Thèse d'agrégation de l'enseignement supérieur. univ. de Liège, 1973.
2. ANSAY (M.). Note on a third allele in the erythrocytic N.P system of cattle. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.*, 1975, 6 : 121-124.
3. ANSAY (M.). Electroforèse de la nucléoside phosphorylase (N.P) chez 10 zébus du Niger. 1976 (Non publié, cité par BRIUGA *et al.* in : *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1981, 34 (4) : 417-420.
4. ANSAY (M.). Bovine purine nucleoside phosphorylase

- (N.P) : « erythrocytic » and « tissular » enzyme. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.*, 1974, 5 (suppl. 1) : 21-22.
5. ANSAY (M.), BALDEWIJNS-ROUMA (V.), SMITH (J. E.). AM.TT-linked spot test for the detection of « silent » phenotypes of purine nucleoside phosphorylase (N.P) in cattle erythrocytes. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.*, 1975, 6 : 249-250.
  6. ANSAY (M.), HANSET (R.). Purine nucleoside phosphorylase (N.P) of bovine erythrocytes : genetic control of electrophoretic variants. *Anim. Blood Grps biochem. Genet.*, 1972, 3 : 219-227.
  7. BRIOUGA (J.), MAHIN (L.), VERHULST (A.), ANSAY (M.). Premier sondage sur le polymorphisme de 5 enzymes utilisées comme marqueurs génétiques chez les bovins marocains de type Brune de l'Atlas. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1981, 34 (4) : 417-420.
  8. EDWARDS (H.), HOPKINSON (A.), HARRIS (H.). Inherited variants of human nucleoside phosphorylase. *Ann. hum. Genet.*, 1971, 35 : 207-219.
  9. FRIEDKIN (M.), KALCKAR (H.). Nucleoside phosphorylase. In : BOYER (D.), LARDY (H.), MYRBACK (K.), ed. *The Enzymes*. Vol. 5. New York, Academic Press, 1961. 237-280.
  10. MAHIN (L.), MANNAD (S.). Distribution of two alleles of erythrocytic nucleoside phosphorylase in different indigenous and imported Moroccan cattle populations. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1982, 73 (3) : 543-546.