

Bern, 06.05.2008

Polyneuropathie beim Leonberger

Vorgeschichte: Wie entstand das Projekt?

Ende des Jahres 2005 führte das Institut für Genetik der Vetsuisse-Fakultät der Universität Bern und die Schweizerische Kynologische Gesellschaft (SKG) eine Umfrage zum Auftreten von Erbkrankheiten bei Rassehunden durch. Hierbei wurde vom Schweizerischen Leonberger Club die vererbte Polyneuropathie (PN) beim Leonberger Hund als Problem genannt.

Die PN ist eine erbliche degenerative Erkrankung der peripheren Nerven, aus der eine Schwäche und ein Abbau der betroffenen Muskulatur folgt. Diese Erkrankung wurde beim Leonberger zum ersten Mal im Jahr 2003 ausführlich beschrieben (Shelton et al. 2003). In dieser amerikanischen Studie wurden fast ausnahmslos erkrankte Rüden berücksichtigt. Abschliessend wird darin auf eine sehr ähnliche Gruppe von neurogenetischen Erkrankungen beim Menschen, Charcot-Marie-Tooth (CMT) Erkrankungen, hingewiesen. Bislang gibt es nur eine weitere zweite Studie zur PN beim Leonberger bei Hunden aus Frankreich (Riche 2006). Dort wurden sowohl männliche als auch weibliche Leonberger mit PN Verdacht untersucht und die genealogische Betrachtung der Fälle ergab sehr starke Hinweise auf eine monogen rezessive Vererbung. Beide Berichte zur PN beim Leonberger weisen auf die Schwierigkeiten einer eindeutigen klinischen Diagnosestellung hin und betonen den Wert einer zusätzlichen histologischen Untersuchung von Skelettmuskel und peripheren Nerven zur Abklärung der Diagnose bei verdächtigen Hunden.

Was bis jetzt passiert ist?

Im Jahr 2006 wurde in Zusammenarbeit mit dem Schweizerischen Leonberger Club im Institut für Genetik der Vetsuisse-Fakultät der Universität Bern mit der Erfassung, Archivierung und detaillierten neurologischen Untersuchung von betroffenen Leonbergern begonnen. Einzelne verdächtige Tiere wurden in der Kleintierklinik der Universität Bern (Dr. Tim Bley, Prof. André Jaggy) klinisch neurologisch untersucht. Dabei wurden auch Muskel- und Nervenbiopsien zur histologischen Untersuchung an das Institut für Neuropathologie der Universität Düsseldorf

(Prof. Thomas Bilzer) gesandt. Bis heute wurden insgesamt 119 Blutproben von Leonbergern aus der Schweiz und den Niederlanden gesammelt. Darunter sind 17 erkrankte bzw. klinisch verdächtige Leonbergerhündinnen und -rüden.

Wer sind wir?

Tosso Leeb ist seit 1999 Professor für Tiergenetik und seit Herbst 2005 neuer Direktor des Instituts für Genetik der Vetsuisse-Fakultät der Universität Bern. Er ist spezialisiert auf Molekulargenetik von Hunden und anderen Haustieren. Er hat bereits einen Gentest für die Farbverdünnung (dilute) und für eine GM1-Gangliosidose beim Alaskan Husky entwickelt. Er ist als Genetik-Experte Mitglied im wissenschaftlichen Beirat der Schweizerischen Kynologischen Gesellschaft (SKG) sowie im Genetik-Ausschuss des Verband für das Deutsche Hundewesen (VDH).

Cord Drögemüller ist als Fachtierarzt für Molekulargenetik und Gentechnologie seit 2005 als Oberassistent am Institut für Genetik der Vetsuisse-Fakultät der Universität Bern wissenschaftlich tätig. Er ist spezialisiert auf die molekulare Analyse von Erbkrankheiten bei Haustieren und ist derzeit mit der Entwicklung eines Gentests für die angeborene Blindheit bei Schafen beschäftigt.

Zukunft

Mit einem Gentest soll eine einfache und zuverlässige Diagnostik entwickelt werden, um zukünftige Zuchthunde zu testen und Anlageträger zu erkennen. Dies ermöglicht eine Zuchtplanung, bei der die Geburt betroffener Welpen vollständig vermieden werden kann. Um einen Gentest entwickeln zu können, muss aber zuerst die ursächliche Mutation gefunden werden.

Bis ca. Mitte 2006 war es technisch nur möglich, anhand von einem grossen vollständigem Familienmaterial (mindestens 10 vollständige Familien = ganze Würfe inklusive deren Eltern) über Kandidatengene die Regionen herauszufinden, wo evtl. Mutationen stattgefunden haben. Waren die Kandidatengene bekannt, konnte nach der Region gesucht werden, in der die Mutation passiert ist. Die Möglichkeiten zur Aufklärung von Gendefekten ist heute um Etliches erfolversprechender: Das Hundegenom wurde sequenziert und steht öffentlich zur Verfügung (Lindblad-Toh et. al. 2005) und die Technik zur genomweiten Assoziationsstudie lässt sich seit 2006 beim Hund besonders wirkungsvoll einsetzen. Hierfür werden gleichzeitig ca. 30'000 variable Stellen (SNPs) im Genom eines Hundes analysiert und die Genotypen an diesen Stellen bestimmt. Zur Aufklärung einer monogenen autosomal rezessiven Erkrankung wird die Untersuchung an ca. 20 erkrankten Hunden sowie an ca. 20 nicht-betroffenen Kontrollhunden durchgeführt. Anschliessend vergleicht man die Genotypfrequenzen der 30'000 untersuchten SNPs zwischen den betroffenen und den nicht-betroffenen Hunden. Dabei ist zu erwarten, dass einige wenige der 30'000 SNPs, welche in unmittelbarer Nachbarschaft zur kausalen Mutation im Genom liegen, deutliche Unterschiede in den Genotypfrequenzen zeigen, während alle anderen Marker ähnliche Genotypfrequenzen in den beiden Gruppen zeigen. Mit dieser

Technik kann man die Position der kausalen Mutation im Genom sehr genau feststellen. Typischerweise beträgt die assoziierte Region weniger als 0.1 % des gesamten Genoms. Einen derartigen Bereich kann man innerhalb eines überschaubaren Zeitraums (einige Monate) auf Mutationen analysieren, so dass heute im günstigsten Fall ein Gentest für eine monogen vererbte Krankheit innerhalb von 1-2 Jahren entwickelt werden kann, sobald genügend Blutproben (am besten immer von vollständigen Familien) und eine Finanzierung der Forschungsarbeiten zur Verfügung stehen. Es ist wichtig, dass pro Hund eine genügend grosse Menge EDTA-Blut (mindestens 5 ml) vorliegt. Es muss betont werden, dass dies das günstigste mögliche Szenario darstellt. Da es sich um Grundlagenforschung an der Grenze unseres heutigen Wissens handelt, kann ein Erfolg niemals mit absoluter Sicherheit garantiert werden.

Konzept für ein mögliches Forschungsprojekt zur Aufklärung der Ursache der Polyneuropathie beim Leonberger

Vorbedingungen, damit ein solches Projekt überhaupt eine Chance auf Erfolg haben kann:

1. Polyneuropathie ist eine erbliche Krankheit und folgt einem monogen autosomal rezessiven Erbgang.

2. Es stehen EDTA-Blutproben von 20 sicher betroffenen und 20 sicher nicht-betroffenen Hunden zur Verfügung. Die nicht-betroffenen Hunde sollten älter als 6 Jahre sein, damit man sicher ist, dass die Diagnose 'gesund' stimmt. Ideal sind gesunde Wurfgeschwister von erkrankten Hunden. Für spätere Bestätigungsstudien ist es wichtig, dass möglichst immer Blutproben von vollständigen Würfen mit beiden Eltern gesammelt werden.

Projektphase 1 – „Genomweite Assoziationsstudie“ Kosten: ca. CHF 20'000, Dauer ca. 4 Monate

In diesem Projektteil werden die 40 Proben (20 erkrankte + 20 Kontrolltiere) an jeweils 22'000 variablen Stellen im Genom typisiert. Man erwartet, dass die Allele an diesen 22'000 Stellen im Prinzip bei allen Hunden zufällig verteilt sind, allerdings mit einer wichtigen Ausnahme: In der Nähe der ursächlichen Mutation, die ja vermutlich nur einmal passiert ist, werden alle erkrankten Hunde homozygot sein und immer die gleichen Allele tragen. Das kommt daher, dass die ursächliche Mutation ja irgendwann einmal auf einem einzigen Chromosom passiert sein muss und an alle erkrankten Hunde weitergegeben wurde. Im Laufe der Zeit wurde der Grossteil dieses ursprünglichen Chromosoms durch Rekombinationen verändert und nur ganz in der Nähe der ursächlichen Mutation sind die ursprünglichen Allele erhalten geblieben. Mit diesem Experiment kann man also im Erfolgsfalle genau feststellen, wo im Genom die ursächliche Mutation liegt. Typischerweise kann man die Region auf 1 oder 2 Gene (von 25'000 Genen im ganzen Genom) einengen.

Geschätzte Erfolgswahrscheinlichkeit, falls die Vorbedingungen erfüllt sind: 80%

Projektphase 2 – „Analyse der Kandidatenregion“ Kosten: je nach den Genen in der Kandidatenregion CHF 20'000 bis 100'000 Dauer: je nach den Genen in der Kandidatenregion 2 Monate – 2 Jahre

In diesem Projektteil würden die Gene der assoziierten Genomregion auf Mutationen untersucht. Da Gene sehr unterschiedlich gross sind, kann der tatsächliche Aufwand erst genauer abgeschätzt werden, wenn die Assoziationsstudie erfolgreich abgeschlossen ist. Sobald die Mutation gefunden ist, kann ein Gentest entwickelt werden und steht dann innerhalb weniger Wochen zur Verfügung. Damit kann man Anlageträger sicher diagnostizieren und Anpaarungen Anlageträger x Anlageträger vermeiden, so dass dann theoretisch keine betroffenen Welpen mehr geboren werden müssten.

Geschätzte Erfolgswahrscheinlichkeit, falls Assoziationsstudie erfolgreich war: 80 %

Mit freundlichen Grüssen

Prof. Dr. Tosso Leeb

PD Dr. Cord Drögemüller