

**Abschlussberichte von Forschungsprojekten,
die von der GKF gefördert wurden**

Gentestentwicklung für die Polyneuropathie beim Greyhound

Cord Drögemüller

Mit der molekularen Aufklärung der ursächlichen Mutation für die vererbte Polyneuropathie bei Greyhounds steht seit dem Jahr 2009 ein Gentest zur Selektion gegen diese tödlich verlaufende Erbkrankheit zur Verfügung. Die bei Show-Greyhounds berichtete sogenannte Greyhound-Neuropathie stellt damit die erste genetisch charakterisierte Erkrankung aus der umfangreichen Gruppe der Erbkrankheiten des peripheren Nervensystems beim Hund dar.

Die Krankheit macht sich bei betroffenen Welpen bereits im Alter von 3-8 Monaten bemerkbar. Die ersten Anzeichen sind eine zunehmende Muskelschwäche, Belastungsintoleranz, und ein „hoppelnder“ Galopp mit auswärtsgedrehten Kniegelenken. In manchen Fällen betrifft die Lähmung den Kehlkopf, diese Hunde können nur heiser bellen. Der Erkrankungsverlauf ist rasch fortschreitend und es gibt keine Therapiemöglichkeiten. Daher werden betroffene Welpen in der Regel im Alter von 9-12 Monaten eingeschläfert.

Die detaillierte Untersuchung durch ausgewiesene Veterinärneuropathologen sowie die gleichzeitige Archivierung DNA-haltiger Proben von erkrankten Hunden stellte die wesentliche Grundlage dieser Studie dar. Somit genügte die umfassende genetische Untersuchung von nur sieben betroffenen Greyhounds mittels SNP-Chip Analyse, um den kritischen Bereich im Hundegenom zu erkennen. Diese Etappe wurde auf Grund der besonderen Familienstruktur sowie der präzise dokumentierten Verwandtschaftsverhältnissen über viele Generationen erreicht. Mit der eindeutigen Eingrenzung auf einen Abschnitt des Hundechromosoms 13 hat sich die Suche nach dem verantwortlichen Gen stark erleichtert.

Die Polyneuropathie beim Greyhound gehört zur Gruppe der vererbten und chronisch vorschreitenden Nervenkrankheiten, die nur die peripheren Nerven und überwiegend deren motorischen Anteil erfassen. Diese beim Menschen nach ihren Entdeckern bezeichneten Charcot-Marie-Tooth (CMT) Krankheiten, gekennzeichnet durch zunehmende

Schwäche, Muskelatrophie sowie sensorische und reflektorische Defizite, zählen zu den häufigsten Neuropathien. Studien zur molekularen Aufklärung von vererbten CMT Varianten beim Menschen haben über 40 beteiligte Gene hervorgebracht.

Die im Rahmen der Entschlüsselung des Hundegenoms etablierte Beobachtung, dass die überwiegende Mehrzahl der Gene beim Menschen in sehr ähnlicher Ausprägung auch beim Hund auftreten ermöglicht eine vergleichende Betrachtung. Somit half die zuvor erzielte Bestimmung der Lage der zu diesem Zeitpunkt noch unbekanntes Mutation im Hundegenom bei der Auswahl eines vielversprechenden Kandidatengens für die Polyneuropathie bei Greyhounds. Im betreffenden Abschnitt auf dem Hundechromosom 13 konnte das *NDRG1* Gen ausgemacht werden, welches beim Menschen auf dem korrespondierenden Chromosom 8 angeordnet ist. Mutationen im *NDRG1* Gen des Menschen verursachen seltene rezessiv vererbte CMT Erkrankungen (Subtyp CMT4D). Die betroffenen Kinder leider an schwer verlaufenden Polyneuropathien mit hochgradig verminderten Nervenleitgeschwindigkeiten im Bereich des peripheren Nervensystems. Von genetisch modifizierten Mäusen weiß man, dass das von diesem Gen kodierte *NDRG1* Protein sehr wichtig ist für die Aufrechterhaltung der Myelinscheiden, einer um die Fortsätze von Nervenzellen gelagerten elektrisch isolierenden Schicht.

Die daraufhin durchgeführte vergleichende molekulargenetische Analyse des *NDRG1* Gen beim Hund erlaubte das Aufspüren der verantwortlichen Mutation beim Greyhound.

Dabei wurde eine Deletion im *NDRG1* Gen bei erkrankten Greyhounds entdeckt. Dieser Verlust von 10 Basenpaaren der kodierenden Nukleotidsequenz im Bereich von Exon 15 des *NDRG1* Gens hat eine sogenannte Leserasterverschiebung zur Folge. Das bedeutet, dass bei erkrankten Hunden ein fehlerhaftes, körperfremdes *NDRG1* Transkript (RNA) produziert wird. Die durchgeführten Analysen zum möglichen Nachweis des Genprodukts, des *NDRG1* Proteins, in peripheren Nerven erkrankter Greyhounds zeigten die komplette Abwesenheit dieses Proteins im Gegensatz zu gesunden Hunden. Damit konnten starke experimentelle Hinweise erzielt werden, die die *NDRG1* Deletionsmutation als hochwahrscheinlich verantwortliche Mutation für die Polyneuropathie bei Greyhounds darstellten. Schließlich belegte die perfekte genetische Assoziation der identifizierten *NDRG1* Deletion zum Auftreten der Polyneuropathie bei Greyhound die Ursächlichkeit dieser Mutation. Insgesamt 10 betroffene Hunde waren reinerbig (homozygot) für die *NDRG1* Deletion, haben also von Mutter und Vater die schädliche Form (Allel) erhalten. Die 12 verfügbaren Elterntiere betroffener Welpen waren mischerbige (heterozygote) Träger der Mutation. Zum Nachweis der Mutation wurde ein robustes Genotypisierungsverfahren etabliert, welches eine eindeutige Differenzierung ermöglicht. Bereits vor der Veröffentlichung der wissenschaftlichen Details haben wir uns für die praktische Umsetzung eingesetzt, zunächst im Forschungslabor des Instituts für Genetik der Universität Bern, seit Sommer 2010 wird der Test in Europa nun von der Firma LABOKLIN sowie in den USA von der Firma OPTIGEN angeboten.

Die Untersuchung von über 300 Show-Greyhounds ergab eine Häufigkeit von ca. 25 % Trägern. Diese Trägerhunde weisen in der Regel, soweit die Angaben verfügbar waren, eine verwandtschaftliche Beziehung zu den Familien mit den betroffenen Hunden auf. Hingegen wurden bei der Genotypisierung von über 100 Renn-Greyhounds sowie einzelnen Hunden aus 7 weiteren Windhunderassen (Afghane, Borzoi, Galgo Espanol, Italian Greyhound, Irish Wolfhound, Saluki, Whippet) keine Träger für die *NDRG1* Mutation festgestellt. Abschließend lässt sich somit feststellen, dass die Polyneuropathie beim Greyhound auf Grund einer Deletionsmutation im *NDRG1* Gen bei Show-Greyhounds verursacht ist. Die weite Verbreitung des Defektallels stellt somit im Wesentlichen ein Problem in der internationalen Show-Greyhoundpopulation dar. Da die Frequenz der rezessiv vererbten Mutation als sehr hoch einzuschätzen ist, ist ein sofortiger Ausschluss von Trägern nicht realistisch. Ein radikaler Zuchtausschluss aller Träger zum jetzigen Zeitpunkt würde die ohnehin schmale genetische Basis der Show-Greyhounds zu stark einengen und könnte sehr leicht zu einer Häufung anderer Erbkrankheiten führen. Vielmehr sollten Trägerhunde kontrolliert eingesetzt werden.. Von einer Verpaarung zweier Träger wird strikt abgeraten. Nur so lässt sich das Auftreten erkrankter Hunde zuverlässig ausschließen. Wertvolle Träger können weiterhin zur Zucht eingesetzt werden, wenn sie mit nachweislich homozygot freien Hunden verpaart werden Träger werden an etwa die Hälfte ihrer Nachkommen die mutierte Form des Gens weitergeben und an die andere Hälfte ihrer Nachkommen die normale Form des Gens. Wertvolle Trägerzuchttiere sollten

momentan weiter eingesetzt werden und werden bei Verpaarung mit freien Tieren 50 % freien Nachwuchs haben, aus welchem dann die Tiere mit den gewünschten Eigenschaften für folgende Generationen ausgewählt werden können.

Der von uns entwickelte *NDRG1* Gentest kann die vererbte Polyneuropathie beim Greyhound zuverlässig verhindern und mittelfristig helfen, diese Erbkrankheit aus der Rasse zu eliminieren. Somit stellt das Resultat dieser Studie auch einen wichtigen und nachhaltigen Beitrag zum Tierschutz dar. Der letztliche Erfolg liegt nun in Züchterhand.

Cord Drögemüller
Prof. Dr. med. vet., Fachtierarzt für Molekulargenetik und Gentechnologie
Institut für Genetik
Vetsuisse-Fakultät
Universität Bern
Bremgartenstrasse 109a
3001 Bern
Telefon 031 631 25 29
www.genetics.unibe.ch/content/index_ger.html

Gentestmöglichkeiten

Europa: Firma LABOKLIN
<http://www.laboklin.de/>

USA: Firma OPTIGEN
http://www.optigen.com/opt9_greyhound-neuropathy.html