

Gentests in der Veterinärmedizin: Was ist heute möglich?

A. Kehl, P. Kühnlein, I. Langbein-Detsch, E. Müller



Einige Stunden vor der Probenentnahme darf nicht gefüttert werden, um eine Kontamination des Abstrichs zu vermeiden.

In den letzten Jahren ist die Zahl der als erblich erkannten Erkrankungen bei Hunden, Katzen und Pferden stark angestiegen. Durch weltweite Bemühungen in der Forschung konnte bereits für viele dieser Erbkrankheiten die zugrunde liegende Mutation gefunden und deren Wirkungsweise geklärt werden. Mutationen können in verschiedener Form auftreten: in erster Linie treten Punktmutationen (nur ein Basenpaar ist ausgetauscht), Deletionen (hier fehlen ein oder mehrere Basenpaare in der Sequenz) und Insertionen (es sind zusätzliche Basenpaare vorhanden) auf. Alle diese Veränderungen in der Gensequenz haben eine Veränderung des zu bildenden Proteins mit nachgeschalteter Funktionsbeeinträchtigung zur Folge. So kommt es zu Erkrankungen in Form von Missbildungen, Stoffwechselstörungen oder genetischen Prädispositionen.

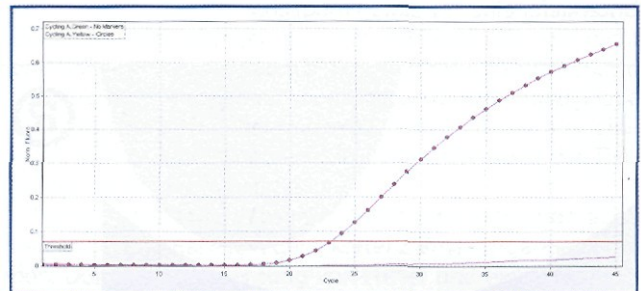
Bei der Cystinurie der Rassen Neufundländer und Landseer beispielsweise führt eine Mutation zu einem Defekt eines Aminosäuretransporters in der Niere, was wiederum eine Ablagerung von Cystinkristallen in Niere und Harnröhre bis hin zum lebensbedrohlichen Verschluss der Harnwege verursachen kann.

Mutationen treten in der Regel spontan in einem Individuum auf und verbreiten sich dann in der Population weiter. Ein sehr eindrucksvolles Beispiel hierfür ist die Stoffwechselerkrankung Hyperkaliämische Periodische Paralyse (HYPP) beim Quarter Horse, die mit leichten bis schweren Muskelkrämpfen verbunden ist. Der Hengst Impressive, bei dem die HYPP-verursachende Mutation zunächst aufgetreten war, wurde aufgrund seiner durch die Erkrankung verursachten beeindruckenden Muskelfülle bevorzugt zur Zucht ausgewählt. Durch diesen Umstand wurde diese veränderte Gensequenz sehr schnell in der Population der Quarter Horses verbreitet. Hiermit wird auch der Grund für das meist rassegebundene Auftreten bestimmter Erkrankungen erklärt. So kommt HYPP ausschließlich bei Quarter Horses bzw. Pferdelinien, in die ein Quarter Horse eingezüchtet wurde, vor. Bestimmte Erkrankungen treten jedoch auch bei verschiedenen Rassen auf. Oft unterscheiden sich dann aber die Mutationen; d.h. die gleiche Erkrankung kann bei verschiedenen Rassen durch unterschiedliche Mutationen hervorgerufen sein. So weichen die für die von Willebrandsche Erkrankung (vWD) verantwortlichen Mutationen bei Dobermännern und Deutsch Drahthaar voneinander ab, und auch auf physiologischer Ebene unterscheiden sich die Erkrankungen (Typ 1 und 2). Während sich die klinischen Bilder, also verstärkte Blutungsneigung etc., ähneln, sind die molekulargenetischen Nachweise unterschiedlich aufgebaut.

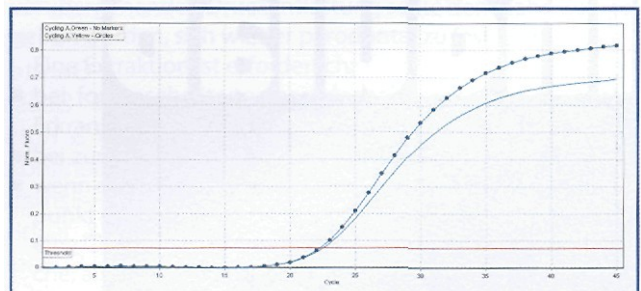
Für die Praxis bedeutet dies, dass immer wieder neue Gentests möglich werden, da durch die laufende Forschung immer wieder Mutationen entdeckt werden. Bei vielen Erbkrankheiten sind heute bereits der Erbgang und die der Erkrankung zugrunde liegende Mutation erforscht und Gentests zu deren Nachweis stehen zur Verfügung. Die Tabelle gibt einen Überblick, bei welchen Erkrankungen und Rassen heute bereits ein Gentest möglich ist (siehe Tabelle)

Eine Limitierung der genetischen Tests liegt darin, dass die zugrunde liegende Mutation bekannt sein muss. Eine weitere Besonderheit der genetischen Tests liegt darin, dass sie sowohl heterozygot als auch homozygot betroffene Tiere unab-

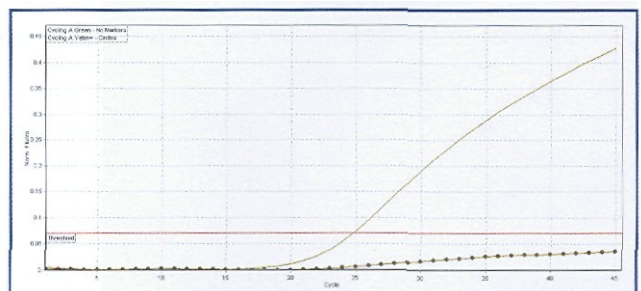
hängig von Alter oder Erkrankungsstatus identifizieren, dass umgekehrt der Nachweis der Mutation aber in vielen Fällen nicht den Nachweis einer Erkrankung selbst bedeutet. Zeitpunkt des Auftretens einer Erkrankung wie auch das Ausmaß klinischer Symptome sind aufgrund eines Gentests in der Regel nicht oder nur sehr eingeschränkt abschätzbar.



Genotyp N/N: Das Tier ist homozygot gesund.



Genotyp N/X: Das Tier ist heterozygot betroffen.



Genotyp X/X: Dieses Tier ist homozygot betroffen, weist also zwei defekte Genvarianten auf.

Was muss in der Praxis beachtet werden?

Für eine Genuntersuchung wird im Labor das genetische Material des Tieres aus seinen Zellen isoliert; die betreffende Sequenz wird mittels der Polymerase-Kettenreaktion (kurz: PCR) millionenfach vervielfältigt und schließlich analysiert. Die Analyse geschieht mittels Sequenzierung, Fragmentlängenanalyse oder mit der jüngsten Methodik, einer SNP-Analyse durch Real-time-PCR. Die Wahl der Methode ist abhängig von der Art der Mutation. Hinsichtlich der hohen Sicherheit sind die Methoden jedoch nahezu identisch.

Für einen Gentest benötigt das Labor eine zellhaltige Probe des Tieres: das ist im Regelfall eine Blutprobe oder ein so genannter Backenabstrich. Die Blutprobe ist immer die Probe der Wahl, da in diesem Probenmaterial in jedem Fall genügend kernhaltige Zellen enthalten sind. Als Gerinnungshemmer sollte EDTA verwendet werden. Die EDTA-Blutprobe kann ungekühlt versendet werden und ist auch im Kühlschrank mehrere Tage lagerbar. Noch leichter zu handhaben als eine EDTA-Blutprobe ist eine so genannte Blutkarte. Hierzu wird einfach ein Tropfen Blut auf ein Stück Spezialpapier aufgetropft und getrocknet in ein Plastiktütchen gegeben.

Möglich ist auch die Einsendung eines Backenabstrichs. Für das Gelingen eines Backenabstrichs ist unbedingt erforderlich, dass bestimmte Punkte bei der Entnahme eines Backenabstrichs beachtet werden: es sollten spezielle Abstrichbürsten (Cytobrushes, z.B. bei LABOKLIN bestellbar) verwendet werden. Der Abstrich von der Maulschleimhaut sollte durch kräftige Bewegungen dergestalt genommen werden, dass genügend Zellmaterial an der Bürste haften bleibt (siehe Abbildung 1). Das Tier darf einige Stunden vor der Probenentnahme kein Futter zu sich genommen haben, um eine Kontamination des Abstrichs zu vermeiden. Nach der Probenentnahme sollten die Bürsten zwei bis drei Stunden an der Luft getrocknet werden, um bakterielles Wachstum im feuchten Milieu zu vermeiden. Der anschließende Versand an das Labor sollte ohne größeren Zeitverzug erfolgen um einen Abbau der DNA zu vermeiden. Wir empfehlen immer, die Gewinnung eines Backenabstrichs in den Händen des Tierarztes zu lassen, da so Qualitätseinbußen durch fehlerhaften Ablauf der Entnahme am besten vermieden werden. Trotz sorgfältiger Durchführung kommt es gelegentlich vor, dass aus Backenabstrichen nicht genügend DNA oder nur DNA geringer Qualität gewonnen werden kann und so der Gentest nicht möglich ist. Deshalb gilt nach wie vor eine Blutprobe als Probenmaterial der Wahl. Nur in bestimmten Fällen - wie z.B. bei ganz jungen Welpen - sollte auf einen Backenabstrich als Probenmaterial ausgewichen werden.

Ein besonders wichtiger Punkt bei jeder Probenentnahme ist die Kontrolle der Identität des Tieres. Diese hohe Verantwortung obliegt dem Tierarzt bzw. einer von der anfordernden Institution zugelassenen Person. Einige Zuchtverbände z.B. akzeptieren die Probenentnahme durch Zuchtwarte. Dabei sollte auch beim Ausfüllen des Begleitformulars auf korrekte Angaben zum Tier (Name, Chip- oder Tätowier-Nummer, Geschlecht) geachtet werden. Eine gewissenhafte Beschriftung der entnommenen Proben ist ebenfalls für die korrekte Durchführung eines Gentests unerlässlich.

Wie sollen Patierntenbesitzer beraten werden?

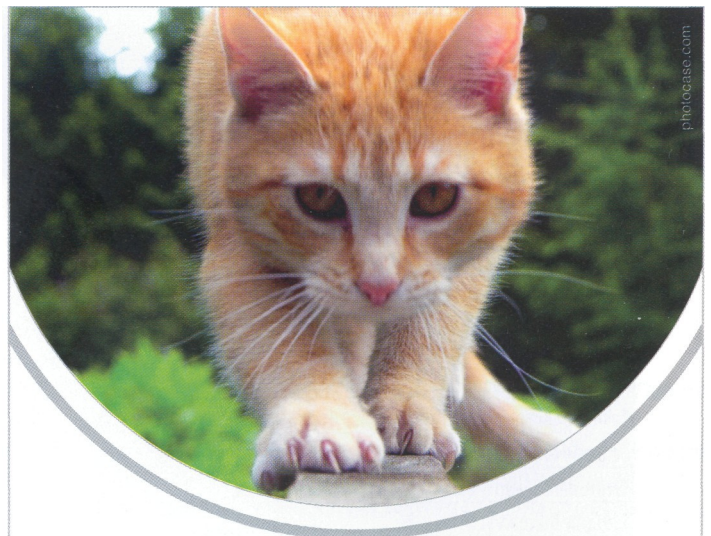
Nicht nur zur fachgerechten Probenentnahme, sondern vor allem auch bei der Besprechung des Befundes und der

sich daraus ergebenden Beratung des Tierhalters, hat der Tierarzt eine sehr wichtige Funktion inne. Nach Bekanntgabe des Ergebnisses werden häufig Fragen von Seiten des Patientenbesitzers gestellt, die meist schwerwiegende Entscheidungen nach sich ziehen. Was bedeutet der Befund für mein Tier? Wird es erkranken? Kann ich mit dem Tier züchten? Muss ich es aus der Zucht nehmen? Beeinflusst der Befund die Lebenserwartung meines Tieres?

All diese Fragen müssen abhängig von dem Befund, der untersuchten Mutation bzw. Erkrankung und dem jeweiligen Tier und Tierhalter geklärt werden.

Zu beachten sind hierbei u.a. folgende Gesichtspunkte:

- Art des Erbgangs:
- autosomal-dominant (wie PKD oder HYPP): Ein defektes Gen ist ausreichend, um die Erkrankung auszulösen.
- autosomal-rezessiv (wie PK=Pyruvatkinasedefizienz oder Cystinurie): Es müssen auf beiden Chromosomen die defekten Varianten vorhanden sein, um die Erkrankung auszulösen.
- Art der Erkrankung: Wie schwer verläuft sie? Führt sie in jedem Fall zum Tod des Tieres? Das Vorhandensein eines defekten Genes muss nicht zwangsläufig zum Ausbruch der Erkrankung führen: Bei einem autosomal-rezessiven Erbgang (wie Cystinurie) müssen zwei defekte Gene vorhanden sein, um die Erkrankung auszulösen. Bei einem autosomal-dominanten Erbgang ist die Schwere und der Zeitpunkt der Erkrankung nicht immer vorhersagbar. Heterozygot von der PKD (polyzystische Nierenerkrankung)-



PRÄZISION IST UNSERE MISSION

MOLEKULARBIOLOGIE BEI LABOKLIN

- +++ Erbkrankheiten (PKD, HCM, vWD, MDR1 ...) +++
- +++ Erreger (Mycoplasma, Borrelia, Chlamydia, Corona ...)
- +++ Abstammung, Identität, Vogelgeschlecht, ... +++

Von Experten, für Experten.

www.LABOKLIN.COM

Labor für klinische Diagnostik GmbH & Co. KG

Steubenstraße 4 · D- 97688 Bad Kissingen
Tel.: (+49) 971 - 7202-0 · Fax: (+49) 971 - 68546
E-mail: info@laboklin.de

Test	Rasse
Hund	
CLAD	Irish Setter
Cystinurie	Neufundländer, Landseer
Fellfarbe braun	Labrador-, Flatcoated Retriever
Fellfarbe gelb	Labrador-, Flatcoated Retriever
Fukosidose	English Springer Spaniel
Globoid Zell Leukodystrophie/ Krabbe-Krankheit	West Highland White Terrier, Cairn Terrier
Kupferspeicherkrankheit	Bedlington Terrier
Myotonia congenita	Zwergschnauzer
Phosphofruktokinase-Defizienz (PFK)	English Springer Spaniel
PRA	Irish Setter, Welsh Corgi, Sloughi, Bullterrier, Mastiff, Bullmastiff
Pyruvatkinase-Defizienz (PK)	Basenji, Westhighland White Terrier
Von-Willebrand-Erkrankung Typ 1	Dobermann, Pudel, Manchester Terrier, Berner Sennenhund, Deutscher Pinscher
Von-Willebrand-Erkrankung Typ 2	Deutsch Drahthaar
Von-Willebrand-Erkrankung Typ 3	Scotch Terrier, Sheltie
X-SCID	Basset, Welsh Corgi
MDR1-Gendefekt (Ivermectin-Unverträglichkeit)	Collie, Sheltie, Austr. Sheperd, Bobtail, Langhaar-Whippet, Silken Windhound
Maligne Hyperthermie	Alle Rassen
Narkolepsie	Dobermann
GM1-Gangliosidose	Husky
Muskeldystrophie (GMRD)	Golden Retriever
Mucopolysaccharidose Typ VII (MPS)	Deutscher Schäferhund
Myopathie (HMLR)	Labrador Retriever
Neuronaler Ceroid Lepofuszinose (NCL)	Border Collie
Fellfarbe lemon	Dalmatiner
Fellfarbe lemon und braun	Dalmatiner
Katze	
Polyzystische Nierenerkrankung (PKD)	Perser, BKH, Ragdoll, Domestic Shorthair, Exotic Shorthair, Selkirk Rex, Scottish Fold und andere Perserabkömmlinge
Gangliosidose GM1/GM2	Korat-/Siamkatze
Pyruvatkinase-Defizienz (PK)	Abessinier, Somali
Hypertrophe Kardiomyopathie (HCM)	Maine Coon
Fellfarbe cinnamon	Alle Rassen
Fellfarbe chocolate	Alle Rassen
Farbvariante Siam (Point)	Alle Rassen
Fellfarbe Burmabraun	Alle Rassen
Agouti	Alle Rassen
Rind	
BLAD	Holsteinrind
Schwein	
MHS	Alle Rassen
Pferd	
Fuchsfarbe	Alle Rassen
HYPF	Quarter Horse, Quarter Horse Blutlinien
Lethal White Foal Syndrome	Overoschecken
SCID	Araber
Agouti	Alle Rassen
Cream	Alle Rassen
JEB	Berg. Kaltblut

Mutation betroffene Katzen können zum Teil jahrelang ohne jede Einschränkung gesund leben.

- Ziele des Tierhalters: Will der Tierhalter einfach ein Haustier? Oder will er das Tier für die Zucht einsetzen?

Was bedeuten die Befunde?

- Genotyp N/N (siehe Abbildung 2): Das Tier ist homozygot gesund bezüglich der entsprechenden Mutation, es weist also kein defektes Gen auf. Es wird folglich nicht an der durch die untersuchte Mutation verursachten Krankheit erkranken. Auch für die Zucht gibt es keinerlei Einschränkungen.
- Genotyp NX (X steht für das defekte Gen) (siehe Abbildung 3): Das Tier ist heterozygot betroffen, d.h. es weist ein defektes Gen auf. Je nach Art des Erbgangs kann es erkranken (autosomal-dominant) oder nicht erkranken (autosomal-rezessiv). Für die Zucht sollte man erkrankte Tiere nicht einsetzen. Bei autosomal-rezessiven Erbgängen gestaltet sich die Zuchtentscheidung schwieriger. Nimmt man bei einem rezessiven Erbgang heterozygot betroffene Tiere komplett aus der Zucht, verkleinert man je nach Prävalenz des mutierten Genes den Genpool unter Umständen beträchtlich. Dies kann im schlimmsten Fall dazu führen, dass andere Mutationen und andere Erkrankungen bevorzugt weitergezüchtet werden. Daher muss man heterozygote Tiere nicht zwingend aus der Zucht nehmen, muss aber bei der Zucht auf die Wahl des Zuchtpartners achten. Verpaart man diese Tiere mit homozygot gesunden Tieren, werden keine kranken Tiere im Wurf auftreten, jedoch wieder statistisch gesehen 50 % heterozygot betroffene Tiere. Die Entscheidung über die Zulassung von Trägartieren zur Zucht fällt in der Regel der Zuchtverband. Diese ist auf die fachmännische Beratung des Experten Tierarzt angewiesen.
- Genotyp X/X (siehe Abbildung 4): Dieses Tier ist homozygot betroffen, weist also zwei defekte Genvarianten auf. Dieses Tier kann an der entsprechenden Erbkrankheit erkranken. Schwere und Zeitpunkt der Erkrankung kann durch den Gentest nicht bestimmt werden. Diese Tiere sind in der Regel von der Zucht auszuschließen.

Vorteile und Grenzen eines Gentests

Ein Gentest kann keine Aussage über den aktuellen Gesundheitszustand eines Tieres geben. Hierzu sind nach wie vor klinische Untersuchungsmethoden für die Diagnosestellung nötig. Die Vorteile von Gentests für eine verantwortungsvolle Tierzucht sind jedoch offensichtlich: Mit relativ geringem Probenmaterial kann bereits ab der Geburt eine eindeutige Aussage über den Genotyp des Tieres getroffen werden. Gentests weisen eine sehr hohe Testsicherheit auf. Bereits sehr früh kann eine verantwortungsvolle Zuchtentscheidung getroffen werden. Schließlich kann durch geeignete Verpaarung aufgrund der Kenntnis des Genotyps die Mutation bei autosomal-dominanten Erbgängen aus der Population eliminiert und bei autosomal-rezessiven Erbgängen das Auftreten kranker Tiere vermieden werden.

Alexandra Kehl, Petra Kühnlein, Ines Langbein-Detsch, Elisabeth Müller
Steubenstraße 4, 97688 Bad Kisslingen, www.laboklin.de