

Studier av ärftlig bakgrund till livmoderinflammation hos hundar

Huvudsökande

Ragnvi Hagman, Universitetslektor
Inst. för kliniska vetenskaper, SLU
Box 7055, 750 07 Uppsala
Tel: 018-672918
E-mail: ragnvi.hagman@slu.se

Medsökande

Göran Andersson, Professor
Institutionen för husdjursavel och genetik, SLU
751 24 Uppsala, Tel: 018-4714903
E-mail: goran.andersson@slu.se

Samarbetspartners

Kerstin Lindblad-Toh, Professor, Uppsala Universitet/Broad Institute, USA
Anne-Sofie Lagerstedt, Professor, Inst. för kliniska vetenskaper, SLU
Tove Fall, VMD Post Doc, Karolinska Institutet, Stockholm
Aime Ambrosen, Veterinärstudent åk 6
Susanne Gustafsson, Tomas Bergström, Katarina Tengvall m fl i hund-dna projektet (<http://hunddna.slu.se/>)

Bakgrund till forskningsprojektet

Varje år drabbas ca 10 000 tikar i Sverige av pyometra (bakteriell infektion i livmodern med inflammation). Enligt resultaten av våra tidigare studier är sjukdomen betydligt vanligare i vissa hundraser, vilket tyder på att det finns en ärftlig bakgrund till sjukdomen. Hos rasen schäfer är pyometra den vanligaste specifika sjukdomsdiagnosen- trots att rasen i sig har låg risk. I Sverige har vi unika möjligheter att undersöka den genetiska bakgrunden till livmoderinflammationer, eftersom de flesta tikarna inte kastreras och vi har utförliga hundregister och försäkringsdata att tillgå. Om vi lyckas med att identifiera sjukdomsgener, kan vi med tillämpade avelsprogram få en hundpopulation som har låg risk för pyometra, vilket är mycket fördelaktigt!

Vi har lyckats identifiera pyometra-associerade gener hos Golden retriever, labrador retriever och Schäfer! För att stärka våra fynd fortsätter vi att bearbeta data under VT 2014.

Målsättning med projektet

Målsättningen med projektet var att **identifiera ärftliga riskfaktorer för pyometra (livmoderinflammation) hos hundar**. Vi använde en tvåstegs-strategi för att kartlägga gener involverade i sjukdomsutvecklingen. Först utförde vi en genome-wide association (SNP-assay, GWA) med en hundras (schäfer, lågrisk för sjukdomen och två andra som har medel respektive ökad risk för sjukdomen - labrador retriever respektive golden retriever). Efter att ha identifierat regioner i genomet som är associerade med sjukdomen, undersöks dessa regioner mer detaljerat. Detta andra steg (sk fine-mapping) genomförs med undersökningar av DNA från ytterligare ett flertal närbesläktade hundraser, vilket innebär att vi snabbt kan minska den region i genomet som är aktuell och därefter identifiera sjukdoms-associerade mutationer. Eftersom pyometra är en komplex sjukdom är det möjligt att fler än en gen är inblandad i sjukdomsutvecklingen. Vi har

identifierat en risk-haplotyp hos golden retriever och är på gång att bearbeta data för labrador retriever och schäfer.

Mål 1: Insamling av DNA-prov från hundar med predisposition för pyometra och kontroller som är skyddade för sjukdomen (inom hundraserna schäfer, golden retriever, labrador retriever).

Dagsläge: Detta mål är uppnått! Vi har jobbat hårt med provinsamlingen och fått stor hjälp av landets veterinärer med provtagningen och mycket positiv respons från hundägare! I särklass var den jämthundsägare som frågade om han genast skulle avbryta jakten för att komma in och ta blodprov! Intresset från veterinärer i andra Europeiska länder har också varit stort och många vill vara delaktiga i projektet och hjälpa till med provinsamling från hundar i sina länder. Dock har vi varit försiktiga än så länge med att involvera fler samarbetspartners innan något behov av detta finns. I dagsläget har 807 prover från fall och kontroller inkommit till biobanken och DNA har preparerats.

Förändring från originalplanen: Provinsamlingen av kontrollhundar har utökades till att omfatta förutom schäfrar även raserna labrador retriever och golden retriever. Detta för att få en mer komplett bild av vad som kan orsaka sjukdomen. För projektet innebär detta att provinsamlingen blev mer omfattande arbetsmässigt och också mer kostsam eftersom fler brev skickats ut och fler ersättningar betalats ut till provtagande veterinärer även om alla kostnader hållits till en miniminivå. Provinsamlingen har även fått en del medfinansiering från anslag från Formas bl. a. Kerstin Lindblad-Toh och Göran Andersson och har fullt stöd ifrån HundDNA-gruppen avseende allt praktiskt. Biobanken tar numera ut en avgift på 250 kr per prov för att preparera DNA från blodet (totalt för 807 prover blir det 201 750 kr). Detta var inte budgeterat för eftersom den avgiften tillkommit sedan ansökan gjordes.

I nuläget har vi fått in följande prover till biobanken:

Ras	Pyometra	Kontroll
Golden retriever	109	159
Labrador retriever	89	183
Schäfer	92	118
Boxer	8	1
Jämthund	29	0
Gråhund	9	0
Vit älgghund	1	0
Westie	9	0

(Totalt: 807 prover)

Vi har inte aktivt börjat samla in prov från kontrollhundar i övriga raser (boxer, jämthund, gråhund, westie) ännu, utan hos dessa raser enbart hundar som diagnosticerats med pyometra.

Mål 2: Att med hjälp av genome-wide SNP mapping identifiera regioner associerade med pyometra.

Dagsläge: Detta mål är uppnått hos Golden retriever och inom kort även schäfer och labrador retriever! Vi följer planen och har analyserat 450 prover med GWA. Vi har identifierat 1-3 gener som skiljer sig hos de tikar som diagnosticerats med pyometra jämfört med tikar som inte utvecklat sjukdomen vid 8 års ålder. Vi kan inte avslöja närmare vilka gener det rör sig om (av publikationstaktiska skäl).

Mål 3: Mer specifikt kartlägga de genomregioner som associeras med pyometra.

Detta arbete pågår och vi kommer att fortsätta undersöka funktionen av de gener som vi identifierat. Dessutom samlar vi in livmodervävnad från tikar som opererats för pyometra och

friska tikar i efterlöpsperioden för att ha möjlighet att undersöka genuttrycket (med transcriptomix) av de gener som vi identifierat.

Mål 4: Kandidatgener från de specifikt identifierade sjukdomsassocierade regionerna genomsöks för mutationer.

Data kommer att sannolikt att bearbetas för en ras (golden retriever) så snart vi har kompletterat våra data med de prover som analyserats under hösten 2013. Denna kostnad kommer att omfatta de 34 310 kr som finns på kontot (se bilaga). För de andra raserna saknas ännu finansiering att för detta steg.

Långsiktigt mål: Att utveckla ett test för bärare av mutation/haplotyp som predisponerar för pyometra så fort som mutationen (haplotypen) har identifierats. Slutligen skulle vi vilja undersöka effekten av den sjukdomsassocierade funktionen av mutationens protein in vitro eller in vivo, om mutationen är reglerande, och se hur den påverkar genuttrycket. Genomiska och funktionella tekniker kan utföras för att definiera genernas roll i immunförsvaret/sjukdomsutvecklingen. Vi söker finansiering för att fortsätta denna del av projektet.

Provinsamling:

För ytterligare information om provinsamlingen - se hemsidan Hunddna (<http://hunddna.slu.se/>) där projektet är beskrivet. Vi håller också på att utveckla en egen hemsida, men den är inte färdig ännu (www.pyometra.se).

Plan för år 2014

- Utföra dataanalyser av resultat från GWA analysen. Pågår. Preliminära spännande resultat såhär långt!
- Bearbeta data från sekvensering hos golden retriever för att identifiera mutationer.
- Manuskript (ca 2-3 st) bearbetas och publiceras.
- Presentationer på internationella vetenskapliga kongresser.
- Populärvetenskapliga artiklar om studien där resultat presenteras.

Redovisning anslag

Totalt anslag för projektet under 3 år: 820 000 kr

Anslaget har huvudsakligen använts för:

Kostnader för: Blodprover (Porto brevutskick till djurägare, Blodprovstagningar inkl. vissa blodanalyser), DNA preparering från alla blodprover, biobanklagring, Genanalyser (Genome wide association analysis, gensekvensering), Kongressresa Genetik kongress vet stud A. Ambrosen, Timanställning vet stud A. Ambrosen totalt ca 2 månader heltid 2010-2012 mm.

Önskas en mer detaljerad redovisning- kontakta huvudsökanden.

På kontot 1 November 2013: 0 kr (efter inkommen slutlig gensekvenseringsräkning)

Publikationer

Planerade vetenskapliga publikationer:

- Ärftlig bakgrund till livmoderinflammation hos Golden retriever, 2014.
- Ärftlig bakgrund till livmoderinflammation hos Labrador retriever, 2014
- Ärftlig bakgrund till livmoderinflammation hos Schäfe, 2014

STORT TACK till Svenska Kennelklubbens och Försäkringsbolaget Agrias Forskningsfond för att ni gör det möjligt för oss att genomföra detta projekt!

