

## Delrapport 2012 - Ärftlig polyneuropati hos Alaskan Malamute

Forskningsarbetet har fortsatt att utgå ifrån det ursprungliga forskningsprogrammet, nämligen att identifiera hundar med "ärftlig polyneuropati hos Alaskan malamute" (AMP), och noggrant undersöka hundar med AMP både in vivo och postmortalt. Eftersom genotypen associerad till denna sjukdom identifierades i ett så pass tidigt skede av vårt arbete, har vi modifierat forskningsprogrammet till att också innefatta en noggrann fenotypbeskrivning av heterozygoter/bärare av den sjukdomsframkallande mutationen i NDRG1-genen.

I den närmaste framtiden skall vi inrikta oss på följande:

- 1) Genotyp-bestämma vävnader från individer som visade symtom på AMP i 1970-80 talets Norge, med metoder som på senare tid har blivit tillgängliga för att extrahera DNA från formalinfixerat material. Det finns på NVH material från flera individer med AMP, ursprungligen avsett för histopatologisk undersökning, arkiverat från den tiden.
- 2) Färdigställa den artikel om fenotypen vid AMP vi startade på 2011. Förutom att där beskriva klinisk bild och patologiska förändringar vid AMP, skall vi i den binda samman de fall vi har sett de senaste åren i Skandinavien med de fall som fanns här i Norge på 70-80 talet. Vi har genom stamtavleanalyser sett att samtliga affekterade hundar ingår i samma släktträd. Vi räknar med att möjligheten att nu bestämma genotypen på dåtidens hundar i formalin-fixerade vävnader kommer att styrka vår slutsats; att de hade exakt samma sjukdom.
- 3) Göra genexpressionsstudier i olika vävnader och olika delar av nervsystemet från affekterade hundar, heterozygoter och friska kontroller. Dessutom planerar vi att analysera expressionsnivåerna av den muterade genen i relation till åldern på de undersökta individerna. Vi följer också sjukdomsförloppet över tid på en och samma individ genom upprepade undersökningar in vivo av några affekterade hundar, och av nerv-och muskelbiopsier från dessa hundar, för att kunna relatera patomorfologiska förändringar i nervsystemet och expressionen av NDRG1-genen till åldern på en enskild individ. Det är känt från förr att en affekterad hunds kliniska bild spontant förbättras, och stabiliserar sig men aldrig blir helt bra, efter den initiala fasen med utpräglad motionsintolerans i 1-årsåldern. I 5-6-årsåldern har, historiskt sett, återigen det kliniska tillståndet försämrats och affekterade hundar har som regel då utvecklat en megaloesofagus. Vi har obduktionsmaterial från några hundar tillvarataget så att det lämpar sig för genexpressionsstudier, och kommer att fortsätta samla material till sådana studier (dvs obduktion direkt efter avlivning, fixering av vävnad i RNA-later för senare infrysning eller omedelbar nedfrysning till -80°C). I experimentella studier på möss med defekt NDRG1-gen har det tidigare vistats att neurologiska symtom debuterar vid någon månads ålder, progredierar under månaderna därefter och stabiliserar sig - för att eventuellt efter det även förbättras - vid ungefär ½-1 årsålder (King et al. *Neurobiology of Disease* 42 (2011) 368-380; Okuda et al. *Molecular and Cellular Biology* 24 (2004) 3949-3956). Parallellt med detta kliniska förlopp förändras den patomorfologiska bilden i perifera nerverna. Det kliniska förloppet på affekterade hundar antyder att expressionsnivåerna även på hund kan variera med åldern.
- 4) Göra systematiska jämförelser mellan AMP-affekterade hundar och greyhounds diagnosticerade med ärftlig polyneuropati, avseende både kliniska och postmortala parametrar. I greyhound-rasen

finns också en rasbunden polyneuropati. Symtombilden i de olika raserna har många likheter, men medan greyhounds har visat debutsymtom i en ålder av 3-9 månader har medianåldern vid symtomdebut för affekterade Alaskan malamute-hundar varit 13,5 månader (range 3-19 månader). Även i greyhound-rasen har den bakomliggande mutationen detekterats i NDRG1-genen (Drögemüller et al. PLoS ONE 5 (2010) e11258). Det är en annan typ av mutation, på ett annat ställe i genen. Rent teoretiskt har det spekulerats i att den typ av mutation som leder till AMP ger en mildare påverkan på proteinfunktionen än den typ som ligger bakom greyhound-polyneuropati. Vår forskargrupp har många beröringspunkter med den grupp av forskare som arbetade med att beskriva genotyp (och fenotyp) vid den ärftliga polyneuropatin på greyhound, och KHJ är medförfattare i den artikel som blev resultatet av det arbetet. Material från greyhounds finns arkiverat (i Uppsala, Köpenhamn och München) och tillgängligt för oss. En jämförande studie av dessa båda sjukdomar kan utgöra en betydelsefull källa till fördjupade insikter om NDRG1-genens betydelse för nervfunktionen.

5) Använda immunhistokemiska metoder för att studera förekomsten av NDRG1-proteinet i olika vävnader, inklusive i blodprover och urinprover, hos homozygotiska och heterozygotiska hundar med muterad NDRG1-gen.

6) Göra en epidemiologisk studie över utbredningen av NDRG1-mutationen i Alaskan malamute-populationen i Skandinavien. Samarbetet med den svenska Alaskan malamute rasklubben har under året initierats och uppmärksamheten kring sjukdomen förväntas generera fler homo- och heterozygoter för fenotypisk undersökning i Sverige. Ärftlig polyneuropati hos Alaskan malamute förefaller vara vida spridd över flera världsdelar, och våra stamtavleanalyser indikerar att mutationen har funnits länge i rasen. Kunskap om utbredningen av bärare av denna gendefekt i rasen ger sannolikt en ännu bättre inblick i mutationens ursprung och dess spridningsvägar över generationerna.