

Bewertung des DNA-Tests zur SOD1-Mutation für die Prognose der Degenerativen Myelopathie (DM)

Von Eberhard Manz¹ und Michael Krawczak²

1 = *Generatio Sol. GmbH, Blumenstr. 49, 69115 Heidelberg*

2 = *Institut für Medizinische Informatik und Statistik, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel*

Zusammenfassung

Der SOD1:c.118G>A Mutationstest wird in der Hundezucht zunehmend für die Diagnose der DM und die Planung von Paarungen eingesetzt. Wir behandeln die Frage, ob der Test auf der Basis der aktuell verfügbaren wissenschaftlichen Informationen als sinnvolles Zuchtinstrument anzusehen ist. Zweifelsfrei ist, dass die getestete Mutation mit dem Auftreten der DM statistisch assoziiert ist, jedoch nicht der alleinige auslösende Faktor sein kann. Der weitaus überwiegende Teil der Tiere, die reinerbig für die getestete Mutation sind, erkrankt nicht („falsch positive Ergebnisse“). Andererseits können auch mischerbige Träger oder Nichtträger der Mutation eine DM entwickeln („falsch negative Ergebnisse“). Bei diagnostischen und prognostischen Tests hängen diese Fehlerraten grundsätzlich von der Häufigkeit der zu testenden Krankheit ab. Die DM ist mit einer häufig zitierten mittleren Prävalenz von 0,19% (19 Fälle pro 10.000 Tiere) eine seltene Erkrankung. Legt man die in der Literatur beschriebenen relativen Risiken der einzelnen SOD1-Genotypen zugrunde, so beträgt das absolute DM-Risiko reinerbiger Mutationsträger nur 0,7%. Allerdings wurde für den Deutschen Schäferhund eine Prävalenz von 2% ermittelt, was zu einem absoluten DM-Risiko von 7,8% führt. Nichts desto trotz erscheint der Einsatz des Mutationstests in der Zuchtplanung nicht sinnvoll.

Einführung

Das Krankheitsbild der DM entsteht durch die Degeneration von Nervenzellen des Rückenmarks; der oder die Auslöser der Krankheit sind bisher unbekannt. Erstes Anzeichen einer DM ist die spastische bzw. generelle Bewegungsschwäche der Hintergliedmaßen in Folge einer reduzierten Reizwahrnehmung bei deren Aufsetzen. Anfangs sind die Symptome überwiegend asymmetrisch, doch im weiteren Verlauf weitete sich die Schwäche aus und es entwickeln sich Störungen in den Reflexen. Mit weiterem Fortschreiten des Verfalls von Nervenzellen sind auch die vorderen Gliedmaßen betroffen. Innerhalb eines Jahres kann es zu einer allgemeinen Bewegungslosigkeit kommen. Die DM ist nicht heilbar.

Die mittlere Häufigkeit der DM (d.h. deren Prävalenz) in der Hundepopulation wird in der Literatur mit 0,19% angegeben. Bei Mischlingen und einzelnen Rassen reicht sie von 0,15% bis 2,1%. (Coates & Wininger, 2010; Coates, et al., 2007). Das Eintrittsalter der DM beträgt im Mittel 9 Jahre, wobei die frühesten Symptome mit ungefähr 5 Jahren beobachtet wurden. Insbesondere bei älteren Hunden lässt sich die DM nur schwer von anderen orthopädischen und neurologischen Erkrankungen (Wirbel-, Sehnen-, Bandscheibenschäden, Tumoren) diagnostisch abgrenzen. Eine verlässliche Diagnose der DM ist nach gegenwärtigem Stand nur nach dem Tod eines Tieres im Rahmen einer histologischen Untersuchung des Rückenmarkgewebes möglich.

Bei der Suche nach den Ursachen für die DM wurde eine Risikomutation (c.118G>A) im Gen SOD1 identifiziert (Awano, et al., 2009), die in fast allen Hunderassen vorkommt und daher

vor deren Trennung entstanden sein muss. Eine weitere SOD1 Mutation (c.52A>T) kommt nur beim Berner Sennenhund vor. In einer Familie von Pembroke Welsh Corgis wurde zudem ein Genort identifiziert (Ivansson, et al., 2016), der das DM-Risiko ebenfalls modifizieren soll. Die DM ist somit eine Erkrankung mit komplexem genetischem Hintergrund.

Die Verdachtsdiagnose DM wird von Klinikern gegenwärtig gestellt, wenn:

1. die Symptome und die Vorgeschichte dem Bild der DM entsprechen, und
2. andere Ursachen für diese Symptome nicht identifiziert werden können, und
3. der DNA-Test für die SOD1-Risikomutation einen reinerbigen Genotyp AA ergibt.

Leider wird in den wenigsten Fällen eine histologische Nachuntersuchung des Rückenmarks durchgeführt, um so eine DM abschließend und zweifelsfrei zu diagnostizieren. Vielfach ersetzt der DNA-Test sogar die sorgfältige klinische Differentialdiagnose, so dass in der Summe die Anzahl der mit „Verdacht auf DM“ eingeschläferten Tiere zunimmt.

Assoziation zwischen SOD1-Genotyp und DM

Die Häufigkeit und Rasseverteilung der DM-assoziierten SOD1-Mutationen haben (Zeng, et al., 2014) in einer groß angelegten Studie von >35.000 Hunden untersucht. Die typisierten Tiere waren aus unterschiedlichen Gründen für einen DNA-Test vorgesehen worden, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die Stichprobe als Kontrollkollektiv für Tiere mit DM herangezogen werden kann. Bei den 33.746 Tiere, die in die statistische Auswertung eingegangen waren, ergab sich folgende Genotypenverteilung der SOD1:c.118G>A Mutation:

- GG (reinerbig Wildtyp) 16.550 (49,0%)
- GA (mischerbig) 9.112 (27,0%)
- AA (reinerbig Risikomutation) 8.084 (24,0%)

Über alle beteiligten Rassen hinweg betrug die Häufigkeit der Risikomutation 37,5%.

Zur Abschätzung der Genauigkeit der Verdachtsdiagnose wurde in der gleichen Studie (Zeng, et al., 2014) das Rückenmarkgewebe von 213 Tieren untersucht, die mit dem Verdacht einer DM eingeschläfert worden waren. Von diesen Verdachtsfällen zeigten 45 Tiere (21%) keine für die DM charakteristischen Veränderungen des Rückenmarks. Unter den 168 Tieren mit DM-typischem Gewebefund fand sich folgende Genotypenverteilung:

- GG (reinerbig Wildtyp) 2 (1,1%)
- GA (mischerbig) 9 (5,4%)
- AA (reinerbig Risikomutation) 157 (93,5%)

Diese Daten ergeben eine Odds-Ratio des reinerbigen Genotyp AA von $(93,5:6,5)/(24,0:76,0) = 45,6$ für eine DM. Da die DM mit einer Prävalenz von 0,19 % (Coates & Wininger, 2010) selten ist, entspricht diese Odds-Ratio sehr gut dem relativen Risiko. Ein Tier, das reinerbig für die Risikomutation ist, erkrankt also mit einer 45,6-fach höheren Wahrscheinlichkeit an DM als Tiere mit mindestens einem Wildtyp-Allel.

Das absolute Risiko für eine DM (0,19%) setzt sich zusammen aus dem Risiko der reinerbigen Mutationsträger und dem Risiko der anderen Tiere (abgekürzt: x), wobei ersteres 45,6 Mal höher ist als letzteres, d.h. $0,0019 = 0,24 \cdot 45,6 \cdot x + 0,76 \cdot x = 11,7 \cdot x$.

Daraus ergibt sich im Mittel ein Risiko von $0,0019/11,7=0,000162$ (oder 0,0162%) für Tiere mit Genotyp GG/GA, und von $45,6 \times 0,000162=0,00741$ (oder 0,741%) für reinerbige Tiere mit

Genotyp AA. Anders ausgedrückt: von 10.000 Tieren, die den Genotyp AA aufweisen, erkranken 74 an DM; von 10.000 Tieren mit Genotyp GG oder GA erkranken 16 Tiere.

Verwendung des SOD1:c.118G> Mutationstests zur Zuchtselektion.

Bei der Zuchtauswahl soll mit Hilfe eines DNA-Tests verhindert werden, dass die SOD1:c.118G> Mutation reinerbig bei den Nachkommen einer Paarung auftritt. Basis dieser Überlegung ist die Annahme, dass der Genotyp AA für ein Tier ein untragbar hohes Risiko bedeutet, an einer DM zu erkranken.

Diese Zuchtstrategie ist jedoch aus folgenden Gründen zu hinterfragen:

- Das Auftreten einer DM kann durch den Mutations-Test nicht zweifelsfrei ausgeschlossen werden, d.h. auch Tiere, die mischerbig oder reinerbig für den Wildtyp sind, können eine DM entwickeln. Ihr Risiko beträgt allerdings nur 0,0162%, oder 1:6172.
- Das DM-Risiko reinerbiger Mutationsträger beträgt im Mittel 0,741%, oder 1:135. Angesichts dieser Zahl erscheint es nicht sinnvoll, die Mutation einer Selektion zu unterwerfen und damit einen erheblichen Teil der Zuchtpopulation von der Fortpflanzung auszuschließen. Paarungen vom Typ GG×GG/GA machen unter Annahme der aktuellen Allelhäufigkeiten nur rund 50% aller möglichen Paarungen aus.

Diese Beurteilung stellt nicht in Frage, dass die SOD1-Mutation eine Rolle bei der Entstehung der DM spielt. Wir zeigen vielmehr auf, dass die Fehlerquote eines Tests mit der Häufigkeit der diagnostizierten bzw. prognostizierten Erkrankung in Verbindung steht. Im Falle der seltenen DM bedeutet dies, dass der positiv prädiktive Wert des SOD1-Mutationstest trotz der beeindruckenden statistischen Assoziation (relatives Risiko von fast 50) unter 1% liegt.

Es wäre wünschenswert, wenn es über die tatsächliche Häufigkeit der DM bei den einzelnen Rassen gesichertere Informationen gäbe. Die von Coates, et al., 2007 ermittelte Prävalenz von 0,19 % ist ein Mittelwert über alle Hunderassen und beruht auf der Auswertung einer US-Datenbank klinischer Diagnosen, die nicht durch histologische Untersuchungen bestätigt worden waren. Bei Deutschen Schäferhunden wurde in dieser Studie eine Prävalenz von 2% ermittelt. Mit dieser Häufigkeit läge der positiv prädiktive Wert des Mutationstest bei 7,8%. Dann würden von 1.000 Tieren mit Genotyp AA 78 an DM erkranken.

Heidelberg, den 20. Dezember 2017

Literaturverzeichnis

Awano, T., Johnson, G. S., Wade, C. M., Katz, M. L., Johnson, G. C., Taylor, J. F., . . . Coates, J. R. (2009). Genome-wide association analysis reveals a SOD1 mutation in canine degenerative myelopathy that resembles amyotrophic lateral sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(8), S. 2794-2799.

Coates, J. R., & Winger, F. A. (September 2010). Canine Degenerative Myelopathy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 40(5), S. 929-950.

Coates, J. R., March, P. A., Oglesbee, M., Ruaux, C. G., Olby, N. J., Berghaus, R. D., . . . Williams, D. A. (2007). Clinical characterization of a familial degenerative myelopathy

in Pembroke Welsh Corgi dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(6), S. 1323-1331.

Ivansson, E. L., Megquier, K., Kozyrev, S. V., Murén, E., Körberg, I. B., Swofford, R., . . . Lindblad-Toh, K. (2016). Variants within the SP110 nuclear body protein modify risk of canine degenerative myelopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(22), S. E3091-E3100.

Zeng, R., Coates, J., Johnson, G., Hansen, L., Awano, T., Kolichski, A., . . . Johnson, G. (Mar 2014). Breed Distribution of SOD1 Alleles Previously Associated with Canine Degenerative Myelopathy. *J Vet Intern Med.*, 28(2), S. 515-21.