



Institut für Genetik, Bremgartenstr. 109a, CH-3001 Bern

^b
**UNIVERSITÄT
BERN**

Institut für Genetik
Vetsuisse-Fakultät

Direktor

Bern, 06.05.2008

Polyneuropathie chez le Léonberg

Historique: Comment a débuté le projet?

A la fin 2005 l'Institut de Génétique de la Faculté Vetsuisse de l'Université de Berne et la Société Cynologique Suisse (SCS) ont envoyé un questionnaire au sujet des maladies génétiques rencontrées chez les chiens de race. Le Club Suisse du Leonberg a répondu en évoquant la PN héréditaire comme problème du Leonberg.

La PN est une maladie dégénérative héréditaire des nerfs périphériques qui provoque une faiblesse et une atrophie de la musculature touchée. Cette maladie héréditaire a été décrite précisément la 1ère fois en 2003 (Shelton et al. 2003). Dans cette étude américaine il s'agissait presque sans exception de mâles malades. Les conclusions ont renvoyé à une maladie neurologique très ressemblante de l'humain, la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT). Depuis il n'y a eu qu'une 2ème étude sur la PN du Leonberg chez des chiens français (Riche en 2006). Là, aussi bien des mâles que des femelles Leonberg supposés atteints de PN ont été examinés, et les considérations généalogiques des cas ont donné de très solides indications pour une hérédité monogène récessive. Les deux rapports sur la PN démontrent les difficultés d'un diagnostic clinique clair et expliquent la nécessité de faire un examen histologique des muscles du squelette et des nerfs périphériques pour clarifier le diagnostic chez les chiens soupçonnés d'être atteints.

Que s'est-il passé jusqu'à maintenant?

En 2006, en collaboration avec le CSL, l'Institut de Génétique Vetsuisse à Berne a commencé d'archiver et de détailler les examens neurologiques de Leonberg atteints. Quelques chiens suspectés malades ont subi des examens neurologiques à la Clinique pour Petits Animaux de l'Université de Berne (Dr. Tim Bley, Prof. André Jaggy). Des biopsies musculaires et nerveuses ont aussi été envoyées pour un examen histologique à l'Institut de Neuropathologie

de l'Université de Düsseldorf (Prof. Thomas Bilzer). Jusqu'à ce jour 119 échantillons sanguins de Leonberg de Suisse et de Hollande ont été récoltés. Parmi eux il y a 17 chiens (mâles et femelles) qui sont malades ou supposés malades.

Qui sommes-nous?

Tosso Leeb est professeur de génétique animale depuis 1999 et depuis l'automne 2005 il est le nouveau directeur de l'Institut de Génétique de la Faculté Vetsuisse de l'Université de Berne. Il est spécialisé dans la génétique moléculaire des chiens et autres animaux domestiques. Il a déjà développé un test génétique pour la dilution de la couleur et pour une gangliosidose – GM1 chez l'Husky Alaskan. Il est membre, comme expert en génétique, du comité scientifique de la SCS et membre de la commission génétique de la VDH (société cyn. Allemande)

Cord Drögemüller est premier assistant de Vetsuisse comme vétérinaire spécialisé en génétique moléculaire et en technologie génétique depuis 2005. Il est spécialisé dans l'analyse moléculaire des maladies génétiques des animaux domestiques et développe actuellement un test génétique pour dépister la cécité congénitale chez le mouton.

Avenir:

Grâce à un test génétique un diagnostic simple et fiable doit pouvoir être développé afin de tester les futurs reproducteurs et de reconnaître les porteurs.

Cela rend possible un plan d'accouplement grâce auquel la naissance de chiots atteints pourra être totalement évitée. Afin de pouvoir développer un test génétique il faut d'abord trouver la mutation responsable.

Jusqu'au milieu 2006 il n'était possible, qu'avec beaucoup de matériel de familles complètes (au moins 10 famille complètes = toute une portée y compris les parents) de trouver grâce à "des gènes candidats" les régions où les mutations évt. avaient commencé. Une fois les gènes candidats connus, on pouvait chercher la région dans laquelle la mutation avait eu lieu.

Les possibilités de reconnaissance de gènes défectueux sont aujourd'hui prometteuses de succès: le génome du chien a été séquencé et est à disposition (Lindblad-Toh et.al. 2005) et la technique pour séparer les génomes est utilisée de façon efficace chez le chien depuis 2006.

Pour cela 22'000 endroits variables (SNPs) dans le génome du chien ont été analysés et le génotype de cet endroit a été défini. Pour la reconnaissance d'une maladie monogène autosomale récessive on examinera 20 chiens malades et 20 "chiens contrôle" non atteints. Pour terminer on compare la fréquence génotypique des 22'000 SNPs examinés entre les chiens atteints et les non atteints. On s'attend à ce que quelques uns des 22'000 SNPs, qui sont dans le voisinage immédiat de la mutation responsable dans le génome, présentent une

différence visible dans la fréquence du génotype, alors que tous les autres marqueurs présentent la même fréquence génotypique dans les deux groupes.

Avec cette technique on peut déterminer très exactement dans le génome la position de la mutation responsable. De façon typique la région associée se monte à moins de 0,1% de l'ensemble du génome.

On peut analyser les mutations d'un tel domaine en un temps prévisible (quelques mois), ainsi aujourd'hui dans le meilleur des cas un test génétique pour une maladie héréditaire monogène peut être développé en 1 à 2 ans, sitôt que suffisamment d'échantillons (au mieux toujours une famille complète) et un financement sont à disposition. Il est important d'avoir assez de sang EDTA par chien (min. 5 ml). Il faut préciser que c'est là le scénario le plus avantageux. Comme il s'agit d'une recherche de base à la limite de nos connaissances, le succès ne peut jamais être absolument garanti.

Concept pour un projet de recherche possible pour l'explication la cause de la Polyneuropathie du Léonberg

Conditions afin qu'un tel projet ait une chance de succès

1. La PN est une maladie héréditaire et résulte d'une mutation monogène autosomale récessive.
2. Nous avons des échantillons de sang EDTA de 20 chiens assurément atteints et de 20 chiens assurément non atteints à disposition. Les chiens non atteints devraient avoir plus de 6 ans afin d'être certain que le diagnostic "sain" soit juste. L'idéal sont des frères et sœurs sains de la même portée qu'un chien malade. Pour confirmer les études plus tard il est important de collecter le plus possible de sang de portées complètes ainsi que des deux parents.

Projet phase 1 "Etude des associations de genomes"

Coûts: environ CHF 20'000, Durée env. 4 mois

Dans cette partie de l'étude les 40 échantillons (20 malades + 20 contrôles) verront leur propre génome défini. On s'attend à ce que les allèles soient en principe répartis au hasard dans les 30 000 endroits chez tous les chiens, sans doute avec une exception importante: à proximité de la mutation responsable, qui est supposée n'avoir lieu qu'une fois, tous les chiens malades seront homozygotes et porteront toujours le même allèle. Cela vient du fait que la mutation responsable a eu lieu à un certain moment sur un seul chromosome et a été transmise à tous

les chiens malades. Au fil du temps la plus grande partie des chromosomes d'origine ont été modifiés par des recombinaisons et les allèles d'origine ont été conservés seulement tout près de la mutation responsable. Par cette expérience nous pouvons en cas de réussite définir exactement où la mutation responsable a eu lieu dans le génome. Nous pouvons typiquement resserrer la région sur 1 ou 2 gènes (parmi les 25 000 de tout le génome).

La probabilité de réussite espérée, si toutes les conditions sont réunies, est de 80 %.

Projet phase 2 "Analyse de la région candidate"

Coûts: suivant les gènes dans la région candidate CHF 20'000 à 100'000

Durée: suivant les gènes dans la région candidate 2 mois à 2 ans

Dans cette partie du projet des mutations des gènes de la région associée des génomes seront recherchées.

Comme les gènes sont de taille différente, les coûts effectifs ne peuvent être estimés que lorsque l'étude des associations aura été terminée avec succès. Sitôt que la mutation est trouvée on peut développer un test génétique qui sera mis à disposition en l'espace de quelques semaines. Ainsi on peut très sûrement diagnostiquer les porteurs et éviter d'accoupler un porteur avec un porteur, ainsi théoriquement plus aucun chiot malade ne devrait voir le jour.

La probabilité de réussite souhaitée, si l'étude des associations était une réussite, est de 80 %.

Prof. Dr. Tosso Leeb

PD Dr. Cord Drögemüller