

Von Willebrandsche Erkrankung(vWD)- Bluterkrankheit beim Deutschen Pinscher



Dr. Ines Langbein-Detsch,
Bad Kissingen
20.Oktober 2007

Von Willebrandsche Erkrankung

- **Teil 1**
- Funktionen des Blutes
- Übersicht über Blutgerinnung
- Formen und Symptome der vWD
- Antigentest: Vor- und Nachteile
- Gentest: Durchführung und Ergebnismöglichkeiten
- Zuchtstrategien und Empfehlungen
- Vorteile und Einschränkungen von DNA-Tests

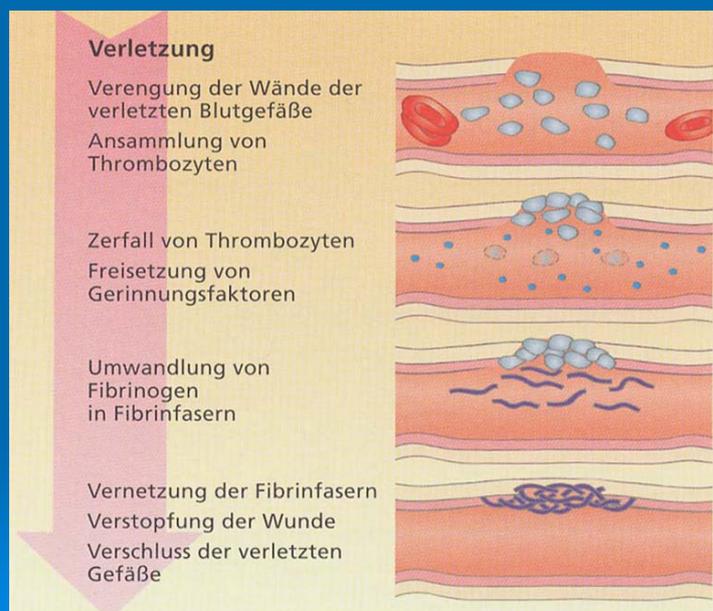
- **Teil 2:**
- Abstammungsbegutachtung und DNA Profile
- Hintergrund, Test, Beispiele

Lebenswichtige Funktionen des Blutes

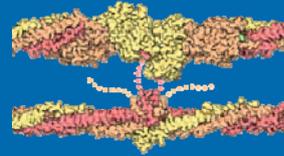
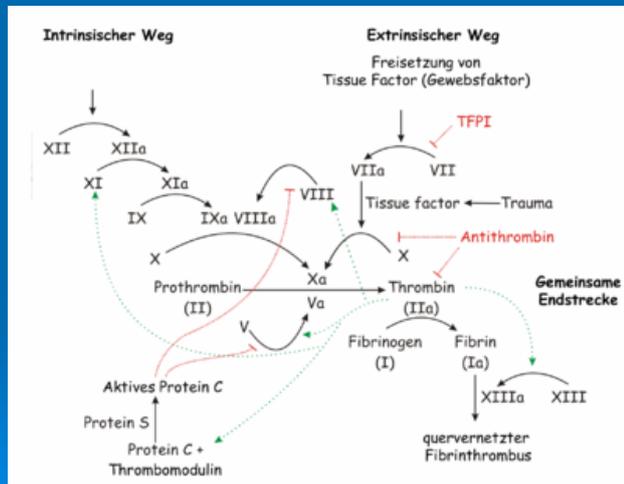
- Transport von Nährstoffen und Sauerstoff
- Versorgung der Körperzellen und Organe

Bei Verletzungen:

- Funktionierende Blutgerinnung wichtig
- Schutz des Körpers vor größeren Blutverlusten
- Innere und äußere Blutungen

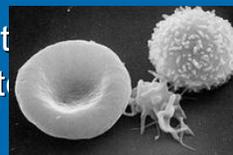


Die Gerinnungskaskade



Funktionen des von Willebrandfaktors (vWF)

- Rolle bei der primären Hämostase (Blutstillung): vermittelt Anheftung der Blutplättchen an die Gefäßwand
- Rolle bei der sekundären Hämostase (Blutgerinnung): schützt den Faktor VIII vor vorzeitigem Abbau



Von Willebrandsche Erkrankung (vWD)

- Häufigste angeborene Blutungsneigung
- Erstmals beschrieben 1926 von Erik-Adolf von Willebrand: „erbliche Pseudohämophilie“:
Im Gegensatz zur Bluterkrankheit wurde eine verlängerte Blutungszeit beobachtet.
- auch „weibliche Hämophilie“:
Im Gegensatz zur klassischen Bluterkrankheit waren auch Frauen betroffen.

Formen der vWD beim Hund

- Typ 1 vWD: zu wenig vWF vorhanden (Dobermann, Pudel, Deutscher Pinscher)
- Typ 2 vWD: weniger vWF vorhanden, Funktionsfehler im vWF (Deutsch Drahthaar)
- Typ 3 vWD: vWF fehlt völlig (Scotch Terrier, Shetland Sheepdog, Dutch Kooiker)

==> Typ 1 ist milde Form der vWD

Symptome der vWD

- Übermäßige Blutungen beim Kupieren, Tätowieren und Zahnwechsel
- Verlängerte Blutungszeit
- Spontanblutungen aus Nase und Maul
- Blut in Urin und Stuhl
- Probleme bei Operationen

Behandlung der vWD

- Behandlung ist „palliativ“, keine „Heilung“, Ziel: Plasmaspiegel des vWFs zu erhöhen
- Infusionstherapie: FVIII / vWF-Konzentrat Kryopräzipitat oder gefrorenes Plasma
- Desmopressin= Vasopressin analog als Injektion, als Nasenspray oder Tablette erhöht kurzfristig die vWF-Spiegel durch Leerung der körpereigenen vWF-Speicher

Diagnose der vWD

- Kapilläre Blutungszeit (buccal mucosal bleeding time) = qualitativer Nachweis
- Messung des vWF-Spiegels im Blut (vWF-Antigentest) = quantitativer Nachweis
- Gentest

vWF-Antigentest

ELISA zur Messung des vWF-Spiegels im Blut

- Vorteil: Aussage über aktuellen Status des Hundes möglich
- Nachteile:
 - Anfälligkeit gegenüber Blutentnahme und Handhabung der Blutprobe
 - vWF-Spiegel können auch bei gesundem Hund von Tag zu Tag variieren
 - Stärkere Abweichung von der Norm aufgrund von Trächtigkeit, Läufigkeit oder systemischen Erkrankungen (Leber, Niere, Schilddrüse)
 - Falsch negative Ergebnisse aufgrund von Medikamenten, Vergiftungen oder Blutplättchenmangel (Thrombozytopenie)
 - Keine Identifikation von Anlageträgern (Carrier) möglich

vWD-Gentest

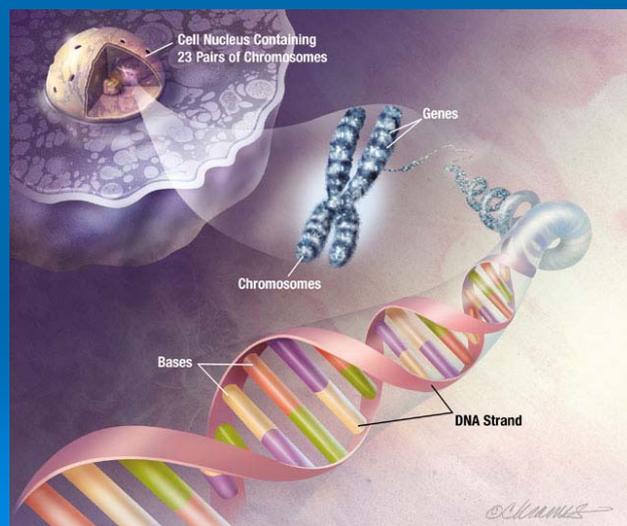
Hierbei wird der Erbfehler (Mutation) nachgewiesen, der diese Form der vWD verursacht.

Nachteil: Aussage über aktuellen vWF-Status ist nicht möglich

Vorteile:

- Testergebnis variiert nicht in Abhängigkeit von der Qualität des Untersuchungsmaterial
- Sehr hohe Testsicherheit (>99%)
- Test kann zuverlässig schon im Welpenalter durchgeführt werden
- Identifikation von heterozygoten Anlageträgern möglich → wichtig für eine verantwortungsvolle Zucht

DNA – Der Schlüssel zu den Erbkrankheiten



Gentest

EDTA-Blut

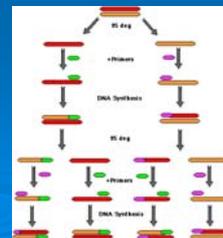
Backenabstrich

Isolierung der DNA

PCR: Vervielfältigung des betroffenen Genabschnitts

Genanalyse:

1. RFLP-Analyse
2. Sequenzierung
3. Real-Time-PCR



Entnahme eines Backenabstriches



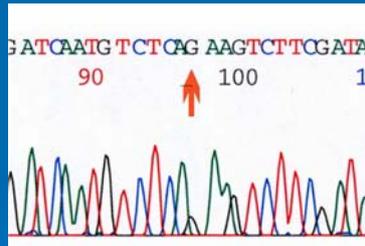
Cytobrushes



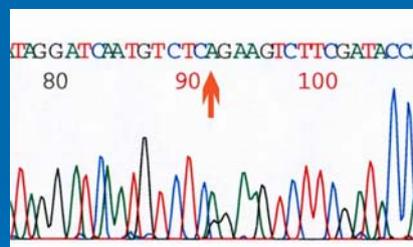
Tupfer für Welpen



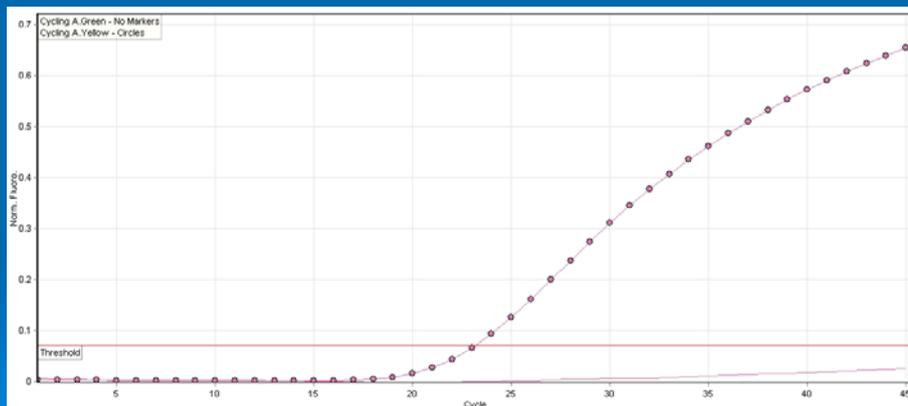
Betroffen: G zu A



Träger: A und G



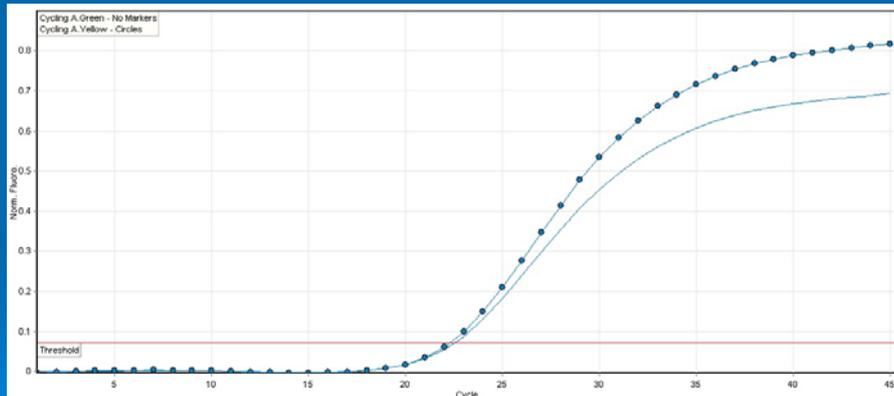
Frei – G vorhanden



Erbgesund: vWD frei

- Die Mutation ist auf keinem Allel vorhanden
- Der Hund kann an dieser genetisch bedingten Form der vWD nicht erkranken
- Der Hund kann kein betroffenes Gen an seine Nachkommen weitergeben

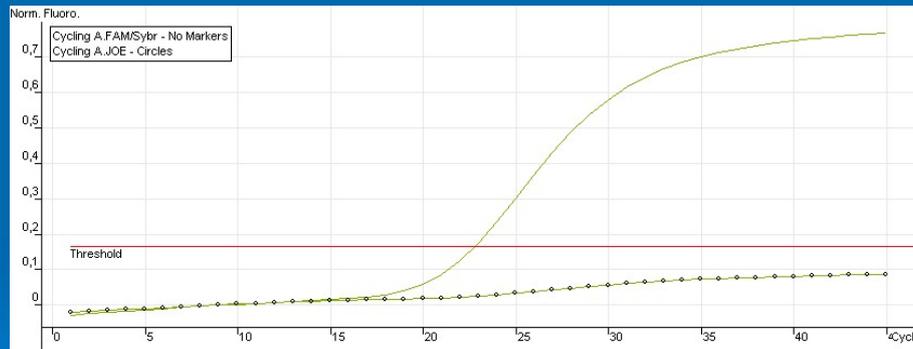
Träger – A und G vorhanden



Heterozygoter Anlageträger: vWD-Carrier

- Die Mutation ist auf einem Allel vorhanden
- Typ 1: dominanter Erbgang mit extrem variabler Penetranz und Expressivität
- Erkrankung kann nicht ausgeschlossen werden, ist aber nicht sehr wahrscheinlich (50% vWF vorhanden)
- Symptome: von verlängerten Blutungszeiten bis hin zu schweren Blutungen
- Der Hund kann ein betroffenes Gen an seine Nachkommen weitergeben (50% Wahrscheinlichkeit)

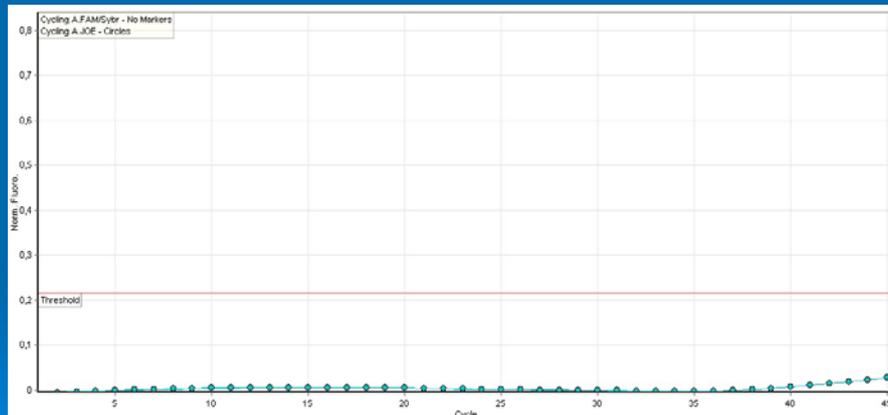
Betroffen – nur A vorhanden



Erbkrank: vWD betroffen

- Die Mutation ist auf beiden Allelen vorhanden
- die vWF Konzentration beträgt ca. 10%, das Tier wird mit einer hohen Wahrscheinlichkeit an vWD Typ I erkranken (Blutungsneigung nicht in jedem Fall)
- Der Hund gibt in jedem Fall (100% Wahrscheinlichkeit) ein betroffenes Gen an seine Nachkommen weiter

Nicht ausreichend DNA



Nicht ausreichend DNA- Warum?

Abstrich:

- Zu wenig Zellmaterial am Backenabstrich
- Zu geringe Trocknungszeit des Abstriches

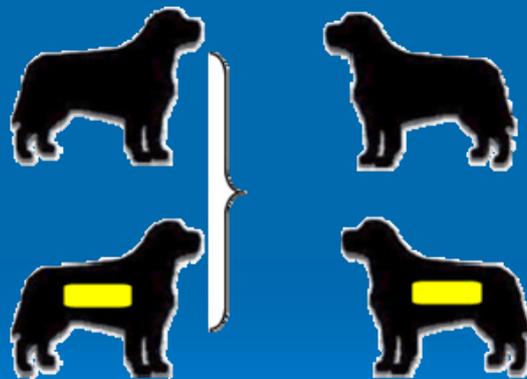
Blutprobe:

- zu lange Transportzeit, vor allem bei hohen Temperaturen
- Inhibitoren im Blut, Hämolyse (Zerfall)

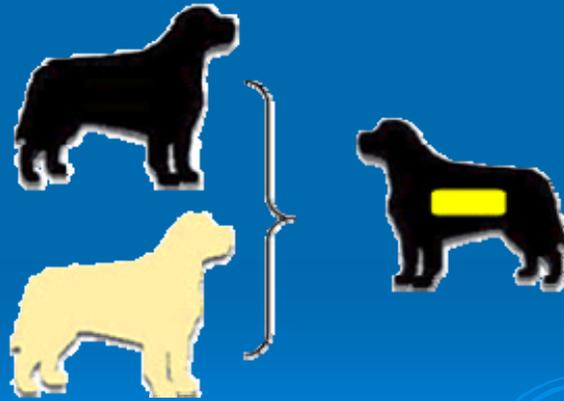
Zuchtstrategien: N/N x N/N



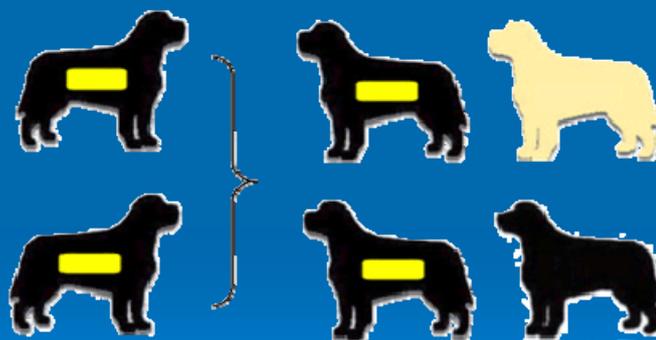
Zuchtstrategien N/N x N/vWD



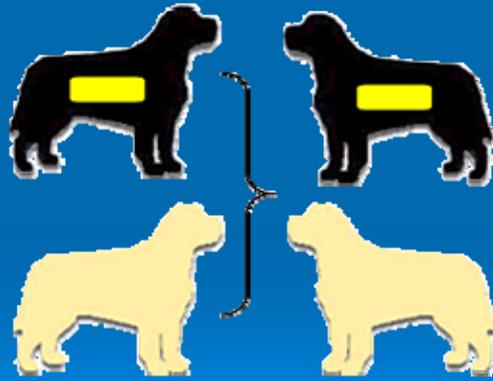
Zuchtstrategien N/N x vWD/vWD



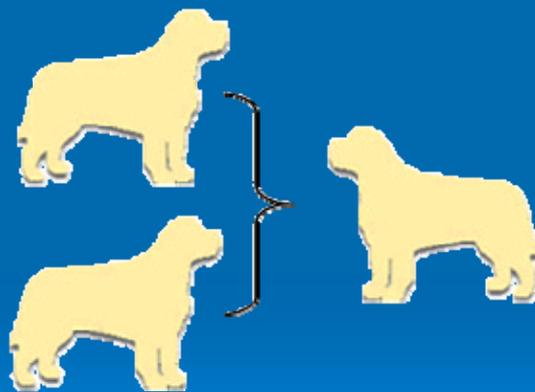
Zuchtstrategien N/vWD x N/vWD



Zuchtstrategien N/vWD x vWD/vWD



Zuchtstrategien vWD/vWD x vWD/vWD



Zuchttempfehlungen

- Paarung clear (frei) N/N x clear (frei) N/N
- Paarung clear N/N x Träger N/vWD
Nachkommen DNA-Test (trotzdem Risiko Blutung für N/vWD Nachkommen)
- Paarung Träger x Träger ist gefährlich:
Träger N/vWD x Träger N/vWD
25% der Nachkommen vWD/vWD (erbrank)
50% der Nachkommen N/vWD (heterozygot)
25% der Nachkommen N/N (erbggesund)
- Paarung betroffen x clear (frei) gibt 100 % heterozygote Tiere

Statistik vWD-Typ 1 (Jan 2006 bis Sept. 2007)

Rasse	getestet gesamt	Freitag N/N	Träger N/vWD	betroffen vWD/vWD	Allel- frequenz
alle	506	322 63.5%	156 31%	28 5.5%	21%
Pinscher	76	62 82%	14 18%	0 0%	9.2%
Dober- mann	302	159 53%	126 42%	17 6%	26.5%
Man. Terrier	100	80 80%	13 13%	7 7%	13.5%
Pudel	28	21 75%	3 11%	4 14%	19.6%

Vorteile von DNA-Tests

- Extrem genau (Real-Time PCR), kurze Laufzeit
- 2 unabhängige Tests werden bei allen Proben durchgeführt, um maximale Testsicherheit zu gewährleisten, Kontrollen im Lauf
- Keine Methode ist verlässlicher
- DNA Tests sind unabhängig vom Alter des Hundes
- Der genetische Status eines Hundes wird ermittelt, bevor eine klinische Diagnose möglich ist
- Das Testergebnis bleibt immer gleich (lebenslang)

Vorteile von DNA-Tests

- Frühe Zuchtentscheidungen, gezielte Verpaarungen
- Züchter können eine Krankheit sogar gänzlich aus ihrem Genpool eliminieren.
- Geringe Anforderungen an die Proben (Transport, Zeit)

Grenzen von Gentests

- Bisher unbekannte Mutationen können auftreten und ähnliche Erkrankungen auslösen.
- Es ist schwierig zu wissen, wie viele Mutationen einer Krankheit in der jeweiligen Rasse existieren.
- Jeder Gentest, der durchführbar ist, unterliegt diesen Grenzen.

Abstammungsbegutachtungen bei Hunden und DNA-Profile



Dr. Ines Langbein-Detsch,
Bad Kissingen
20. Oktober 2007

DNA Profile

- Frage: -Identifizierung von Tieren
- Alternative Methoden: -Tätowierung
- Ohrenmarken
- Mikrochips
- Vorteil: Abstammungsbegutachtung

Vater bekannt, wer ist die Mutter?



- Prinzip
 - Betrachtung hochvariabler Genabschnitte
 - **individuelles Muster** ist
 - nicht veränderbar (über Tod hinaus)
 - Extrem spezifisch (weit weniger genetisch identische Individuen möglich als Blutgruppen-identische)
 - fälschungssicher

Abstammungsbegutachtung

- DNA Profile von Nachkommen, Vater und Mutter werden verglichen
- Ausschluss oder Bestätigung der Vaterschaft
- Wahrscheinlichkeitsberechnung, wenn nur ein Elternteil verfügbar ist oder Geschwister verfügbar sind
- Extrem genaue Methode

Vater bekannt, wer ist die Mutter?

- Prinzip
 - Betrachtung hochvariabler Genabschnitte
 - Für **ererbtes Muster** gilt
 - Jeder Genabschnitt besteht aus je einem Allel von Vater und von Mutter
 - Vergleich gibt extrem große Sicherheit für Ausschluss, große Sicherheit für Bestätigung
 - Likelihood ratio möglich



Testdurchführung

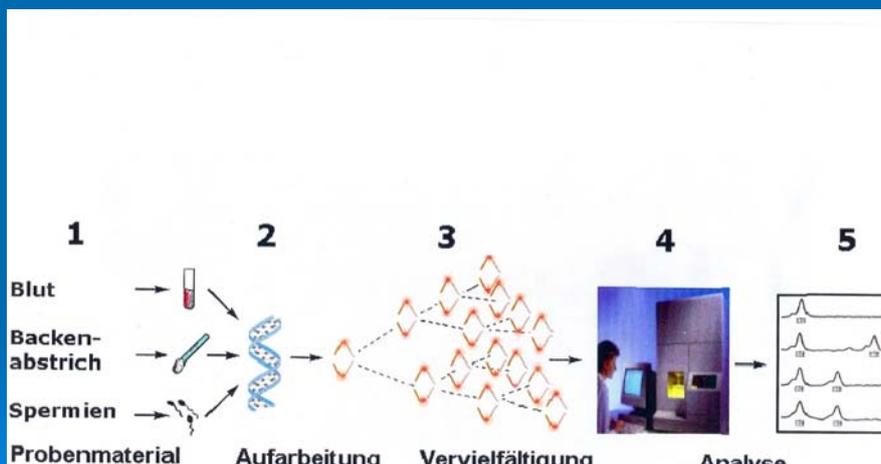
Betrachtung der Länge von repetitiven Sequenzen
(2 Loci pro Genabschnitt)

Vergleich mit den Allelen mit potentiellen Eltern



Likelihood ratio: Berechnung der Wahrscheinlichkeit unter Berücksichtigung der Häufigkeit der nachgewiesenen Allel-Längen in der Gesamtpopulation (rassespezifisch!)

Wie funktioniert ein DNA-Test



DNA-Marker



Zertifikat

LABOKLIN
LABOR FÜR KLINISCHE DIAGNOSTIK GMBH & CO. KG

Pfüb, Alexander
Szeubenstr. 4
97688 Bad Kissingen

Zertifikat
DNA-Profil Hund

LABOKLIN-Befund-Nr.: 0705510000
Hund: Parson Russell Terrier, Lilli
Zuchtbuch-Nummer: 29/0000001
Chip-Nummer: 6666
Tato-Nummer: 7777
Verband: Klub für Terrier
Besitzer: Pfüb Alexander

Von der oben beschriebenen Probe wurde folgendes DNA-Profil erstellt:

D1: 113,113	D7: 174,178
D2: 100,108	D8: 222,234
D3: 183,188	D9: 140,144
D5: 222,229	D12: 132,138
D6: 269,273	D13: 169,220

LABOKLIN
20070615 15:25:13
Dr. J. Müller
Bad Kissingen, 15-06-2007

DAC-PL-0230818-00

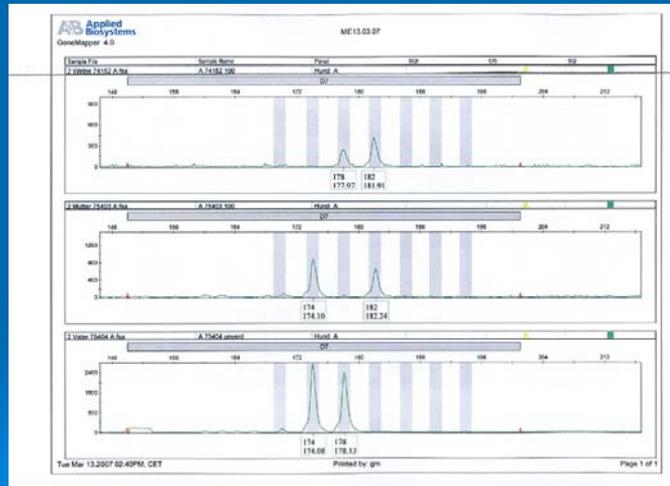
Dieses Labor ist für die oben stichprobenartig kontrollierten Anordnungen nach DIN ISO 17025. Die Verantwortung für die Präzision der Ergebnisse zu den angegebenen Preisen liegt bei dem Ernehmer. Gesundheitsgefährdungen können nicht übernommen werden. Anwesenheitsbedingungen sind online gestrichelt. Auf den Bedingungen der nachfolgenden Urkunde wird ausdrücklich hingewiesen.

Abstammung

Nachkomme

Mutter

Vater

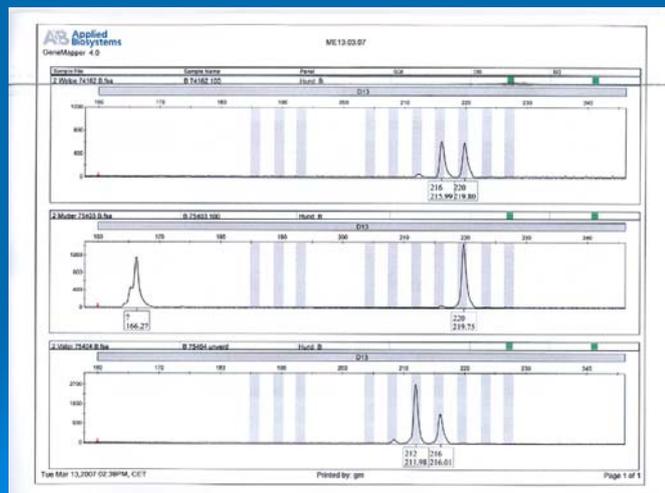


Abstammung

Nachkomme

Mutter

Vater

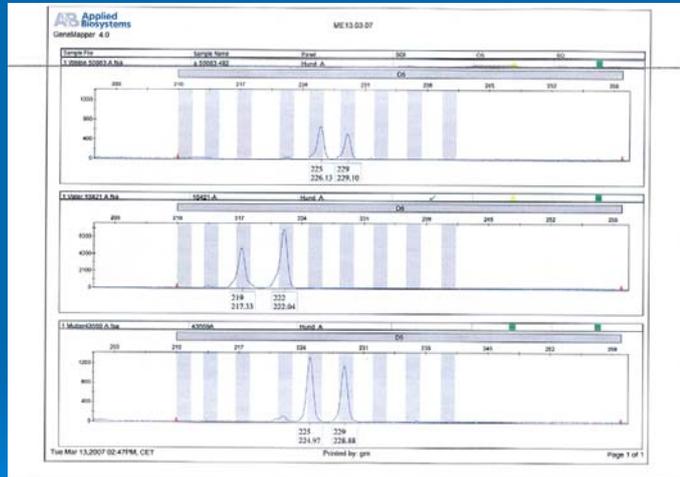


Abstammung

Nachkomme

Vater

Mutter



Ausschluss der Vaterschaft !!!

Weitere Fragen???

