



Dermoid sinus hos Rhodesian ridgeback

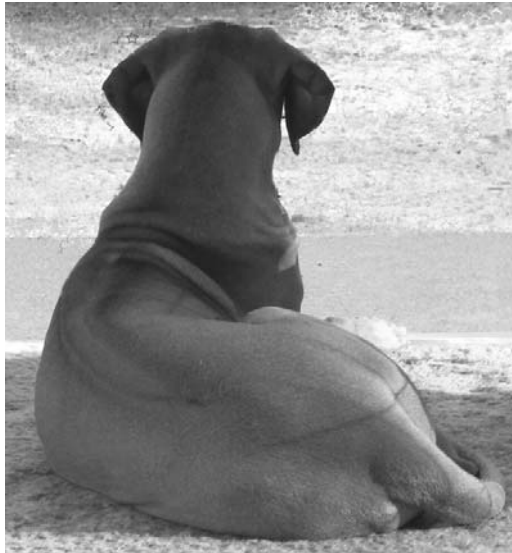


Foto: Ingrid Bergman

Av
Ingrid Bergman

Engelsk titel: Dermoid sinus in the Rhodesian ridgeback
Handledare: Göran Andersson
Inst. för husdjursgenetik
Examinator: Stefan Marklund

Husdjursvetenskap - Examensarbete 15hp
Litteraturstudie
SLU, Uppsala 2008

Abstract

Rhodesian ridgeback is a dog breed that originates from southern Africa. The characteristic ridge (a dorsal ridge where the hair grows in the opposite direction to the general coat) is shared with an Asian breed, Thai ridgeback. The origin and inheritance of the ridge has been examined and defined. The ridge-mutation is a duplication that contains four complete genes, FGF3, FGF4, FGF19 and ORAOV1 and the 3'-end of CCND1. The ridge is inherited as an autosomal, dominant trait and predisposes for Dermoid sinus (DS), a disease that develops during embryogenesis. The aim with this thesis is to look into the possibilities to reduce the number of dogs that gets affected by DS. DS belongs to a group of congenital malformations that is called Neural Tube Defects (NTD) and also can affect humans. Studies on humans have shown that addition of folic acid during pregnancy can reduce the risk of being affected by these malformations. According to an Australian study the same seems to apply to Rhodesian ridgebacks. Another suggestion to reduce the occurrence of DS in Rhodesian ridgebacks is to use ridgeless dogs in breeding. Dogs with ridge, which are homozygous for the mutation, are predisposed to DS, while ridgeless dogs never get affected by DS. By using a ridgeless dog there would not be any offspring homozygous for the mutation. Yet another suggestion is that a DNA-test should be developed to show the genotype of breeding dogs and exclude those with multiple copies of the duplication which may be at larger risk of producing offspring with DS.

Sammanfattning

Rhodesian ridgeback är en hundras som stammar från södra Afrika. Den karaktäristiska ridgen (en hårkam längs ryggen där håren växer åt motsatt håll jämfört med resten av pälsen) delas med en annan ras, Thai ridgeback. Ursprunget och nedärvningen av ridgen har undersökts och utretts i flera studier. Ridgemutationen är en duplikation som innehåller fyra kompletta gener, FGF3, FGF4, FGF19 och ORAOV1 och 3'-delen av CCND1 genen. Det har även blivit klart att ridgen som nedärvs autosomt dominant också predisponerar för Dermoid sinus (DS), en sjukdom som uppstår under embryonalutvecklingen. Syftet med litteraturstudien är att undersöka möjligheterna att minska antalet hundar som drabbas av DS. DS tillhör en grupp sjukdomar som kallas "Neural Tube Defects" (NTD) som även förekommer hos människor. Studier på människor har visat att tillskott av folsyra under graviditeten kan minska risken att drabbas av dessa missbildningar. Detsamma verkar gälla för Rhodesian ridgebacks enligt en australiensisk studie. Ett annat förslag för att minska förekomsten av DS hos Rhodesian ridgebacks är att använda ridgelösa hundar i avel. Hundar med ridge, homozygota¹ för mutationen, löper högre risk att drabbas av DS, medan ridgelösa hundar inte alls drabbas av DS. Genom att använda en ridgelös hund skulle inga avkommor homozygota för mutationen uppstå. Ännu ett förslag är att utveckla ett DNA-test för att visa genotypen² på hundar som ska användas i avel och utesluta dem med flera kopior av mutationen eftersom de sannolikt har högre risk att ge upphov till avkomma med DS.

Introduktion

Rhodesian ridgeback är en hundras som ökat i popularitet de senaste åren. 1990 registrerades 101 hundar, vilket stadigt har ökat till 487 hundar år 2007, enligt Svenska kennelklubbens

¹ Homozygot - individen ärver samma anlag från båda föräldrarna, t.ex. r/r eller R/R.

² Genotyp - Den specifika alleluppsättningen hos en individ - antingen hos hela individen, eller vanligare, för en specifik gen eller uppsättning av gener.

avelsdata. Karaktäristiskt för rasen är ridgen, en hårkam längs ryggen där pälsen växer åt motsatt håll jämfört med resten av pälsen. Enligt rasstandarden för Rhodesian ridgeback (Svenska kennelklubben, 2008) ska ridgen vara klart definierad, symmetrisk och börja direkt bakom skuldrorna för att smalna av mot den punkt på ryggen där höftbenen framträder. Den nedre delen av kronan³ får inte sitta längre ner än en tredjedel av ridgens längd. I medeltal är ridgen fem cm bred upptill. Enligt rasstandarden (Salmon Hillbertz, 2007) ska ridgen dessutom bara ha två kronor, de ska vara placerade mittemot varandra och identiska, den högra kronan ska vara vriden medurs och den vänstra moturs. Avvikelser från rasstandarden kan vara att ridgen har fler eller färre än två kronor, eller att hunden helt saknar ridge, s.k. ridgelös hund (se figur 1).



Figur 1. Exempel på syskon med (från vänster) korrekt ridge, inkorrekt ridge (extra krona till vänster om ridgen) samt utan ridge. Foto: Ingrid Bergman (vänster och mitten) och Jan Schröder (höger).

Ridgen finns hos ytterligare en hundras, Thai ridgeback. Hypoteser om ridgens uppkomst har debatterats, en är att ridgen stammar från Asien, från den inhemska Phu-Quoc-hunden. En annan är att ridgen ursprungligen kommer från Afrika, från Khoi-hunden. Den tredje, minst sannolika, hypotesen är att mutationen uppstått på dessa båda ställen parallellt. (Salmon Hillbertz, 2007)

Dermoid sinus (DS) är en ärftlig sjukdom hos Rhodesian ridgeback och förekommer även hos Thai ridgeback. Chamberlain (2005) beskriver att DS uppkommer under embryonalutvecklingen. När centrala nervsystemet bildas och dras undan från ektoderm (lagret som ska bli hud) kan en ofullständig separation mellan lagren uppstå. Ett rör bildas, vilket kan variera från att sitta fast i ryggraden till att sluta strax under huden (se figur 3). Oftast finns det en hudöppning, men DS utan hudöppning kan också uppstå. DS kan upptäckas direkt efter valpens födelse, genom att lyfta upp skinnet och känna efter rörliknande knutor under huden. Det vanligaste är att valpen avlivs då det upptäcks att den har DS eftersom upptäckt DS kan infekteras och orsaka stor smärta hos hunden. Eftersom DS är ärftligt ska ingen hund med upptäckt DS användas i avel. Ett tydligt samband mellan DS och ridgen har påvisats i studier av Salmon Hillbertz & Andersson (2006). I studien

³ Krona - hårvirvel i övre delen av ridgen, se figur 1.

undersökte man både hundar med och utan ridge och fann att ingen ridgelös hund uppvisade sjukdomen.

Syftet med litteraturstudien är att undersöka möjligheterna att minska antalet hundar som drabbas av DS.

Rhodesian ridgeback - ursprung och rashistoria

Rhodesian ridgeback är en sydafrikansk ras som främst använts som jakt- och vakthund. Hunden var tillräckligt stor för att kunna vakta böndernas djur om nätterna, samtidigt som den var smidig nog att springa ifatt en antilop och fälla den. Den största missuppfattningen om ”Afrikas lejonhund” är att den jagade och dödade lejon. Faktum är att ingen hund, oavsett hur modig, skulle kunna döda ett lejon. Om ett lejon orsakade besvär genom att gå på gång attackera de inhägnade djuren användes hundarna till att spåra upp lejonet och hålla det i schack tills jägarna kom dit och kunde skjuta det. (Chamberlain, 2005)

Enligt Salmon Hillbertz & Andersson (2006) tros ridgen stamma från en inhemsk afrikansk hundras, Khoi-hunden (Hottentotternas jakthund). Rasen som vi känner till den idag härstammar förmodligen från korsningar mellan Khoi-hunden och olika europeiska raser, som t.ex. blodhund, labrador, mastiff, hjorthund och pointer. En av de mest kända personerna under ridgebackens uppkomst är pastor Charles Helm enligt Chamberlain (2005). Han hade med sig två tikar, förmodligen av greyhound-typ, till sin missionsstation i Zimbabwe (dåvarande Rhodesia). Cornelius Von Rooyen, en berömd jägare och äventyrare besökte pastorn och blev så imponerad av hans hundar att han parade några av sina jakthundar med pastorns tikar. Ingen av pastorns hundar ska ha haft ridge, men när de parades med Von Rooyens hundar ska ridgen ha uppträtt hos valparna. Dessa hundar är ursprunget till dagens Rhodesian ridgebacks. Von Rooyen fortsatte att välja sina hundar utifrån förekomsten av ridge, deras djärvhet, uthållighet och överlägsna jaktförmåga. Hans hundar blev efterfrågade och legendariska. Utöver de egenskaper Von Rooyen valt ut blev hundarna även kända för sin intelligens, skarpsinne och uthållighet.

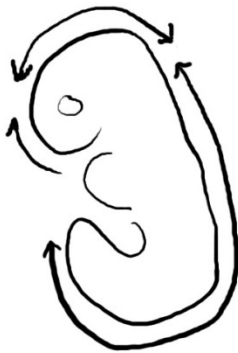
Redan i den första rasstandarden definierades ridgen tydligt (Salmon Hillbertz & Andersson, 2006). Enligt Chamberlain (2005) skrevs den första rasstandarden 1922, inspirerad av standarden för Dalmatiner. Efter omarbetning accepterades den 1926 av Kennel Union of South Africa. I slutet av 1920-talet registrerades flera kennlar, av vilka flera finns bakom dagens hundar. Under andra världskriget minskade rasens popularitet och många av kennlarna upphörde. På 1960-talet återuppväcktes intresset för rasen och sedan dess har det bara ökat. Idag finns stora populationer i USA, Storbritannien, Nya Zeeland, Australien och Europa.

Dagens Rhodesian ridgeback används som allroundhund och kan fungera som apportör, stötande hund, eftersökshund samt stående fågelhund. Rasen finns även representerad bland ledarhundar och polishundar. Rasens kanske mest kända egenskap är som en god vakthund. (Specialklubben Rhodesian Ridgeback Sverige, 2008)

Dermoid sinus

Uppkomst av Dermoid sinus under embryonalutvecklingen

Den ridgade fenotypen⁴ beror på en mutation som påverkar den embryonala utvecklingen av hårfolliklar och hud. Mellan dag 21 och 28 i hundens embryonalutveckling bildas tre groddblad, vilka ger upphov till alla vävnader och organ i hunden. Det yttre groddbladet (ektoderm) utvecklas till bl.a. hjärnan, ryggraden och huden. Det mellersta (mesoderm) bildar bl.a. bindväv, muskler och skelett och det inre groddbladet (endoderm) ger upphov till bl.a. matsmältnings- och andningssystemet, levern, bukspottkörteln och sköldkörteln. (Salmon Hillbertz, 2007)



Figur 2. Sammansmältningen börjar i mitten av pilarna och där pilarna möts bildas tillslutningspunkterna (ändrat efter original av Copp, 2003).

Neuralröret är den embryonala struktur som bildar hjärna och ryggrad (Green, 2002). Det bildas genom att neuralplattan böjs ihop, smälter samman i medellinjen och formar en cylinder, därefter täcks neuralröret av yttre ektoderm (blivande hud). Sammansmältningen börjar ”mitt på” ryggen och fortsätter uppåt och nedåt längs den blivande ryggraden. Neuralröret har flera sådana sammansmältningpunkter som går samman i öppna tillslutningar (se figur 2). Då dessa tillslutningar inte stängs ordentligt bildas olika missbildningar av ryggkotornas bågar (Neuralrörsdefekter; Neural Tube Defects – NTD). Det finns flera NTD-klassade sjukdomar, varav en är DS. (Copp *et al.*, 2003; Salmon Hillbertz, 2007) DS uppstår då huden och neuralröret inte har separerat fullständigt under embryonalutvecklingen (Salmon Hillbertz, 2005). Både Rhodesian ridgeback och Thai ridgeback drabbas av DS. Eftersom både veterinärer och uppfödare ofta förknippar DS endast med ridgebackhundar är det för tillfället okänt hur frekvent sjukdomen förekommer i andra raser. (Salmon Hillbertz, 2007)

Olika typer, förekomst och diagnos

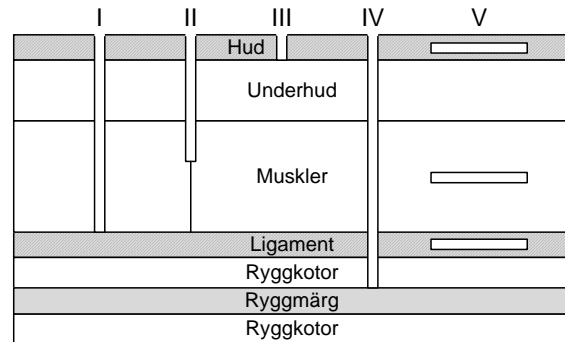
Dermoid sinus förekommer i de yttre delarna av ryggens medellinje. Anatomiskt motsvarar dessa positioner regionerna där neuralrörets tillslutningar förekommer, dvs. före och efter ridgen. En DS kan beskrivas som ett tunt rör (sinus), invändigt klätt med hår och talgkörtlar på samma sätt som vanlig hud. Sinusen kan också innehålla talg, hår och keratinskräp. Uppbyggnaden av sinusen är oförändrad genom överhuden, läderhuden och de undre vävnadslagren. (Salmon Hillbertz, 2005) Fem olika typer av DS (se figur 3 och tabell 1) har beskrivits och klassificerats efter hur djupt de tränger ned mot ryggraden och om de har en hudöppning eller inte.

För att diagnosticera DS palperas huden genom att en uppfödare eller veterinär lyfter upp huden och känner efter om det finns några rör eller knölar under huden. Den vanligaste kliniska diagnosen är en eller flera hudöppningar där tofsar med päls sticker fram, vilka lätt kan ses om området rakas. Om sinusen blivit infekterad kan hunden uppvisa smärta vid palpation. Den femte typen, som inte har någon hudöppning, är svår att upptäcka vid palpation. När den femte typen är belägen nära ryggraden har även associerade neurologiska defekter i bakbenen, beteendeändringar samt inkontinens beskrivits. (Salmon Hillbertz, 2005; 2007)

⁴ Fenotyp - alla (yttre och inre) egenskaper hos individen, som orsakas av arv i samspel med miljö. Vissa fenotyper kan lätt observeras (t ex ridgen).

Tabell 1. Diagnostiska egenskaper för de fem typerna av Dermoid sinus (efter Salmon Hillbertz, 2005)

Typ av Dermoid sinus	Kännetecken
I	Sträcker sig ner till supraspinous ligament ⁵ och i halsregionen troligtvis till nacksenan, till vilken den är fäst.
II	Sträcker sig inte ända ner till supraspinous ligament, men är förbunden till den via en bindvävssträng.
III	Sträcker sig inte ner till och är inte förbunden med supraspinous ligament.
IV	Är fäst vid ryggmärgen.
V	Saknar hudöppning, har ingen bestämd plats i någon specifik vävnad.



Figur 3. De fem olika typerna av Dermoid sinus (efter Salmon Hillbertz, 2005).

Samband mellan ridge och Dermoid sinus

Hunden som genetisk modell

Hunden har visat sig vara en mycket bra modell för att identifiera genetiska förändringar som orsakar specifika sjukdomar, eftersom det är stora likheter inom raserna och stora skillnader mellan raserna. Detta tros bero på två flaskhalsar populationen genomgått i sin utveckling, den första då hunden domesticerades och den andra vid rasbildningen. Flaskhalsarna och följdaveln för renrasiga hundar med specifika egenskaper har resulterat i starkt inavlade hundraser med hög frekvens av genetiska sjukdomar. Flera sjukdomar som finns hos hundar påminner dessutom om dem som återfinns hos oss människor. Inte bara DS utan även hjärtsjukdomar, autoimmuna sjukdomar och flera olika former av cancer. För att avla för friskare hundar och för att använda hunden som genetisk modell för människa har hundens genom⁶ varit av intresse sedan 1990-talet. (Karlsson *et al.*, 2007; Salmon Hillbertz, 2007)

Gamla avelsstrategier har resulterat i långa haplotyper⁷ (500 kilobaser (kb) till 1 megabas (Mb)) liksom omfattande kopplingsjämvikt inom raser, såväl som variation mellan raser. Forskare har möjlighet att spåra isolering av en mutation över flera generationer genom mutationer som är identiska genom ursprung (sjukdomsgener kommer från en gemensam stamfader). Andra faktorer som gör hunden till en forskningsmässigt intressant modell är relativt korta generationsintervall, någorlunda stora kullar (rasspecifikt), delad miljö med människor, tillgång till omfattande stamtavlor och fenotypisk data. (Salmon Hillbertz, 2007)

Nedärvning av Dermoid sinus

Enligt Salmon Hillbertz (2005) har flera olika nedärvningssätt av DS föreslagits genom åren, bl.a. som en enkel autosomal (icke könsbunden) recessiv egenskap, som en ofullständigt dominant egenskap eller en kombination av två recessiva gener. 2005 gjordes en studie av

⁵ Supraspinous ligament - löper längs ryggradens övre del.

⁶ Genom - summan av det genetiska materialet i en art.

⁷ Haplotyp - närliggande alleler på en kromosom. Kan avse från så lite som endast två loci till hela kromosomen.

Salmon Hillbertz, där χ^2 -analys användes för att utvärdera data från 129 kullar födda mellan 1990 och 2001. Två analyser gjordes, den ena baserades på de klassificerade heterozygota⁸ föräldradjuren och den andra baserades på de kullar där avkomma med DS fötts. Baserat på rapporterade och ej rapporterade fall antas frekvensen i den här Rhodesian ridgeback-populationen vara mellan 8 och 10 %. Eftersom dessa data är rapporterade av uppfödare till Specialklubben Rhodesian Ridgeback Sverige (SRRS) beror resultaten helt på uppfödarnas noggrannhet. Vissa individer som föds med inkorrekt ridge eller helt utan ridge avlivs utan att undersökas för DS, inte heller dödfödda valpar undersöks, vilket gör att en stor och viktig del av informationen rörande DS förloras. Hypotesen om enkel autosomal recessiv nedärvning fick inte stöd av resultaten från χ^2 -testen. Avvikelserna mellan observerade och förväntade antal avkommor med DS var signifikanta. Slutsatsen från Salmon Hillbertz studie (2005) var att då tillgängliga data ej kunde definiera nedärningsmönstret men antydde ett komplext nedärningsätt.

I en senare studie av Salmon Hillbertz & Andersson (2006) användes data från 402 kullar för att utvärdera en eventuell korrelation mellan ridgen och DS. Endast i 87 av dessa kullar fanns ridgelösa valpar (202 individer), varav ingen uppvisade DS. En genetisk korrelation mellan ridgen och DS blev statistiskt bevisad. Av totalt 3598 valpar hade ingen av de 202 ridgelösa DS, medan 201 av de 3396 med ridge hade DS.

En studie gjord av Salmon Hillbertz *et al.* (2007) påvisade ett tydligt samband mellan hundar med ridge, homozygota (R/R) för mutationen, och DS. Av de 11 hundarna med DS var 10 homozygota för mutationen. Ingen av de ridgelösa hundarna som undersöktes hade DS. Detta stärker resultaten från studien av Salmon Hillbertz & Andersson (2006), ridgen är en autosomt dominant nedärvd egenskap som predisponerar för DS hos Rhodesian ridgeback.

Kartläggning av ridgemutationen

Metoden - genome-wide association mapping

Hundpopulationens genetiska struktur antyder att en kartläggningsmetod i två steg vore möjlig att använda för att effektivt kartlägga egenskaper. Både långa kopplingsojämvikter inom raser och korta kopplingsojämvikter mellan raser kan användas. Det första steget innebär att en relativt utspridd marköruppsättning och få hundar används för att identifiera en region om ungefär 1Mb. För att definiera ett locus för en recessiv egenskap har simuleringar visat att det skulle räcka med ca 15 000 Single Nucleotide Polymorphisms⁹ (SNPs) och 20 påverkade hundar samt 20 kontrollhundar. I det andra steget utförs en förfinad kartläggning med en tät uppsättning SNPs i flera raser. Det gör att associationsregionen begränsas till ett par hundra kb. Denna metod och endast nio ridgelösa hundar samt 12 kontrollhundar med ridge användes för att kartlägga den ridgelösa allelen till en 750-kb region på kromosom 18. (Karlsson *et al.*, 2007)

Ridgemutationen är en duplikation

I den genetiska modellen som antogs var ridgelösa hundar homozygota för vildtypsallelen (r/r), hundar med ridge men utan DS heterozygota eller homozygota för ridge-allelen (R/r eller R/R) och hundarna med ridge och DS var homozygota (R/R) för ridge-allelen. Av de 12

⁸ Heterozygot - individen ärver olika anlag från varje förälder, t.ex. R/r. I detta fall är R dominant och även R/r får ridge.

⁹ Single Nucleotide Polymorphism (SNP) - positionsbestämd variation i arvsmassan som berör en enda nukleotid (t.ex. AATGCC → AACGCC). För att klassas som SNP måste variationen finnas hos mer än en procent av populationen.

hundarna med ridge som användes hade 11 DS och resultaten visade att 10 av de 11 hundarna med DS var homozygota för en haplotyp som inte fanns hos de ridgelösa. För att kontrollera om ridge-allelen var förknippad med en duplicering användes en annan teknik (multiple ligation-dependent genome amplification). Analysen visade att Rhodesian och Thai ridgebacks med ridge var heterozygota eller homozygota för en stor duplicering (större än 100 kb). Brytpunkterna för dupliceringen lokaliserades och sekvensering av ungefär 1,7 kb utanför brytpunkterna visade att både Rhodesian och Thai ridgebacks hade identiska brytpunkter. Analys av mitokondrie-DNA visade inte något nära släktskap mellan raserna. Dupliceringen har visats vara mutationen som orsakar ridgen. Detta betyder förmodligen också att mutationen kan ha kommit antingen från den ena populationen till den andra, eller att den funnits från början i den tidigt domesticerade hundpopulationen. (Salmon Hillbertz *et al.*, 2007)

Fem gener lokaliserades i dupliceringen; FGF3, FGF4, FGF19, ORAOV1 och CCND1. Endast 3'-ändan av CCND1 dupliceras, vilket innebär att den genen troligtvis inte bidrar till ridgen. Tre av generna, FGF3, FGF4 och FGF19, kodar för tillväxtfaktorer (FGF) som är viktiga under tidig embryogenes. Förändringar i dessa FGF-gener kan troligen påverka embryoutvecklingen. När FGF-generna regleras och uttrycks felaktigt längs rygglinjen under embryonalutvecklingen blir följden oorganiserade hårfolliklar och ökad risk för DS hos ridgebackhundar. Kunskapen om ORAOV1 genen (Oral carcinoma Overexpressed 1) är begränsad och denna gen bedöms som mindre sannolik, men kan ej uteslutas, att bidra till uppkomsten av ridgen. (Salmon Hillbertz *et al.*, 2007)

FGF-biologi

Enligt Powles *et al.* (2004) omfattar FGF-generna en viktig familj av intracellulära signalmolekyler som är nödvändiga för normal utveckling hos djur i många avseenden. FGF-generna kan framkalla olika cellulära reaktioner beroende på ligand/receptor-kombination och embryonal miljö. De reglerar skilda processer som differentiering, tillväxt, cellmigration, överlevnad och skapande av vävnad. FGF-signaleringsomvandlas genom FGF-receptorer med hög affinitet (Fgfr 1 - 4). Hos möss där enskilda receptorer muterats har den livsviktiga nödvändigheten av normal FGF-signalerings under däggdjurs utveckling bekräftats då mutationer i Fgfr1 och 2 leder till tidig död under embryonalstadiet och Fgfr3-mutanter också uppvisar allvarliga utvecklingsstörningar. Ornitz & Itoh (2001) beskriver att det är känt att flera FGF-gener (bl.a. FGF3, FGF4 och FGF19) endast är aktiva under embryonalutvecklingen, medan andra uttrycks i både embryonal och vuxen vävnad. FGF-gener använder direkt och ömsesidig signalering, vilket kräver sträng reglering av både FGF-aktivitet och receptorspecificitet. I försök med knockout-möss har olika FGF-gener slagits ut, med olika resultat. Om FGF4 eller FGF15 (motsvarande FGF19 hos människa) slås ut dör musen under embryonalstadiet. Slås FGF3 ut överlever musen, men det får konsekvenser för utvecklingen av inneröra och skelett (svans).

Vad gör FGF under embryonalutvecklingen?

FGF3: Utveckling av lillhjärnan, bakhjärnan och framhjärnan, svans/näthinna/tänder och innerörat. Extra-embryonal endoderm.

FGF4: Utveckling av extremiteter, tillväxt av inre cellmassan, gynnar tillväxt av nervstamceller och nervös differentiering i hjärnan efter födseln.

FGF19: Utveckling av hjärnan i fostret, bildning av brosk, hud och näthinna, gallsyrasyntes och fyllning av gallblåsan, uttrycker mesoderm under neuralrörets tillslutning, involverat i steroidhormonaktivitet. (Salmon Hillbertz, 2007)

Nedärvning av ridgen

En studie av Salmon Hillbertz & Andersson (2006) visade att ridgen nedärvs som en autosomt dominant egenskap. Med hjälp av statistiska test visades också att ridgen och DS är genetiskt korrelerade. Inga ridgelösa hundar i den svenska populationen har mellan 1981 och 2001 drabbats av DS. Baserat på rapporterat antal ridgelösa hundar och kullstorlekar uppskattas frekvensen ridgelösa hundar i den svenska ridgebackpopulationen till 5-6 %.

I en annan analys av Salmon Hillbertz *et al.* (2007) visade data att ungefär 80 % av den svenska Rhodesian ridgeback-populationen är heterozygot (R/r) för duplikationen som ger ridgen. Enligt dessa siffror borde 16 % av de nyfödda hundarna vara ridgelösa, tre gånger fler än tidigare uppskattat. Det indikerar antingen att frekvensen oönskade ridgelösa hundar underrapporterade, eller att homozygota (R/R) utan DS är överrepresenterade i avelspopulationen.

Hos mer än 50 Rhodesian och Thai ridgebacks fanns ett fullständigt samband mellan dupliceringen och ridgefenotypen, vilket stämmer överens med en fullt genomtränglig, dominant nedärvning av ridgen. Av de 15 ridgebacks som hade DS var 13 homozygota för duplikationen. Det innebär att hundar med mutationen löper större risk att få DS, med låg genomtränglighet hos heterozygota och hög genomtränglighet hos homozygota. (Salmon Hillbertz *et al.*, 2007)

Folsyra

Svenska livsmedelsverket (2008) beskriver att folsyra är syntetiskt framställt av ämnet folat. Folat och folsyra är vattenlösliga B-vitamin som är nödvändigt för bildningen av röda blodkroppar och för cellernas ämnesomsättning. Folat behövs även för att fostret ska utvecklas normalt under graviditeten. Om den gravida kvinnan har för låg halt folat i blodet är det större risk att fostret får ryggmärgsbråck. Därför rekommenderas kvinnor som planerar en graviditet att ta extra tillskott av folsyra. Folat finns naturligt i bl.a. baljväxter, gröna bladgrönsaker, kål, rotfrukter och fullkornsprodukter. Enligt Pitkin (2007) är skillnaden mellan folat och folsyra viktig eftersom kroppen har olika lätt att ta upp dem. Vid intag på fastande mage är folat ifrån födan ungefär hälften så tillgänglig som folsyra.

Folsyra och medfödda missbildningar

Folsyrabrist har sedan 1970-talet misstänkts bidra till olika missbildningar av ryggkotornas bågar - neuralrörsdefekter (NTD), men de avgörande bevisen kunde inte påvisas förrän i mitten av 1980-talet och början av 1990-talet med hjälp av behandlingsstudier. Det förhållande mellan folat och NTD som upptäcktes för över 50 år sedan, har nu blivit erkänt som resultat av ett stort antal kliniska undersökningar. Det har fastslagits att då modern får tillskott av folsyra förhindras en stor del NTD, dvs. ökad koncentration av folat i blodserum eller röda blodkroppar förknippas med minskad risk för NTD. Försök på knockout-möss har visat att det inte är avvikelser i folat-metabolismen som ger NTD, utan avvikelser i andra metaboliska banor som kan rättas till av tillsatt folsyra. Dessutom har försök på möss visat att NTD i flera musstammar är folatresistent och att den vitaminliknande molekylen inositol kan förhindra dessa missbildningar genom en mekanism som kräver stimulering av protein kinas C i embryonala celler. Detta ger möjligheten att i framtiden förebygga NTD hos människor, med hjälp av både inositol och folsyra. (Green, 2002; Copp, 2003; Pitkin, 2007)

Pitkin (2007) beskriver flera fallstudier som utförts där kvinnor som tidigare fått barn med NTD jämförts med kvinnor som tidigare fått friska barn utifrån olika aspekter som t.ex. tillskott av folsyra. Fyra av fem undersökningar har påvisat statistiskt signifikanta minskningar (35 – 75 %) av barn med NTD. Ett annat försök som innefattade en dold, randomiserad jämförelse av folsyra och placebo började minst en månad innan befruktning och fortsatte genom första trimestern. Ett stort antal kvinnor som tidigare haft NTD-påverkade graviditeter deltog. Sex NTD-fall hos de 593 kvinnorna som fått tillskottet jämfört med 21 NTD-fall hos de 692 kontrollkvinnorna gav en riskreduktion på 72 %. Bland de kvinnor som säkert intagit folsyra före befruktning var riskreduktionen 83 %.

Folsyraanvändning för Rhodesian ridgeback

Carlsson (1999) rapporterade en preliminär studie på hur folsyra kan förebygga DS hos Rhodesian ridgeback, rapporten presenterades vid The Rhodesian Ridgeback World Congress 1996. DS uppstår redan under den andra eller tredje dräktighetsveckan, innan det ens är fastställt att tiken är dräktig. Det är känt att folsyra kan förhindra NTD hos människor, effektivast om behandlingen startar innan befruktningen och pågår minst tre månader in i graviditeten. En av författarna till rapporten undrade då om detta kunde appliceras på det liknande tillståndet hos Rhodesian ridgebacks – DS. Intresserade uppfödare deltog i en studie, de fick svara på olika frågor om tikens intag av extra folsyra från parningstillfället, tikens vanliga kost och hur det var med DS bland föräldradjurens syskon. Uppfödarna rapporterade dessutom bl.a. kullstorlek, valparnas kön, förekomst av DS och andra medfödda avvikelser. Kullarna delades in i fyra grupper efter tikens folsyraintag; normal diet, folsyratabletter, högt folat innehåll i dieten, högt folat innehåll oavsett källa. I den normala dietgruppen var frekvensen avkomor med DS 16 %, i folsyratablettgruppen var frekvensen 7,3 % och i de båda grupperna med högt folat innehåll var frekvensen 4,2 % (ingen sinus förekom i gruppen med högt folat innehåll i dieten) (se tabell 2). Alla skillnader i DS-frekvens mellan den normala dietgruppen och de med högre folat innehåll (även tillsatt folsyra) var signifikanta. Slutsatsen av den här studien var att det starkt kan rekommenderas att ge tiken en diet med högt folat innehåll direkt före parning och under hela dräktigheten, eller en normal diet med ständig tillsats av folsyra.

Tabell 2. Frekvens av avkomor med DS efter tikar med olika folat innehåll i dieten (efter Carlsson, 1999)

Behandling	Antal valpar	Antal DS-positiva	Frekvens (%)	Förhindrad del (%)	Signifikans (P)
Normal diet	213	34	16		
Folsyratabletter	123	9	7,3	55	0,03
Högt folat innehåll i dieten	93	0	0	100	0,0003
Högt folat innehåll alla källor	216	9	4,2	74	0,0005

Diskussion

Avelsstrategier

DNA-test för att sälla bort DS-orsakande mutation

Ridgen är adelsmärket för Rhodeisan ridgeback och det är nog få uppfödare som vill offra den för att få fram en friskare ras. Mutationen som orsakar ridgen kan också ge DS om hunden får den i dubbel uppsättning. Salmon Hillbertz (2007) beskriver att ett DNA-test kan tas fram när den genetiska komplexiteten hos DS har utretts. Det skulle hjälpa uppfödare att välja avelshundar som inte bär på den DS-orsakande mutationen. Jag tycker att det vore en utmärkt

idé. Om alla avelshundar kunde testas för mutationen skulle risken att hundar med DS typ 3 eller 5, som kan vara svåra att upptäcka, används i avel minska. På så vis skulle den totala förekomsten av DS minska dramatiskt. Enligt Salmon Hillbertz (2007) kan detta vara ett förslag på ett långsiktigt avelsprogram, där den DS-orsakande mutationen ”späds ut” över flera generationer. För att det ska vara praktiskt genomförbart krävs också en öppen kommunikation mellan uppfödare världen över.

Använda ridgelösa hundar i avel?

Salmon Hillbertz (2007) föreslår att ett första steg i att minska förekomsten av DS och den DS-orsakande mutationen kan vara att tillåta ridgelösa hundar i avel under några generationer. Det skulle ge färre fall av DS eftersom inga individer skulle bli homozygota för mutationen i en kombination där den ena föräldern är ridgelös. Jag tror att det kan vara bra som första alternativ innan något DNA-test tagits fram, eftersom det nu är känt att ridgelösa hundar inte bär på anlag för DS. Hundar med ridge kan vara antingen heterozygota eller homozygota för mutationen, men det är inget som syns på fenotypen. Vill man vara säker på att inte få några avkommor med DS är det enklaste sättet att använda en ridgelös hund som förälder, då det är omöjligt att få några dominant homozygota avkommor. Nackdelen är att andelen ridgelösa hundar kommer att öka och därmed minskar förekomsten av rasens adelsmärke. Frågan uppfödarna måste ställa sig är om det är viktigast med en frisk ras eller fler individer med ridge. Enligt Salmon Hillbertz (2007) krävs även här en öppen kommunikation mellan uppfödare världen över, samt sträng kontroll på avkomman.

Hundar med extra kronor i ridgen

Något jag inte tagit upp alls är de ridgade hundar som har extra kronor. Det beror på att man inte kunnat fastställa varför dessa extra kronor uppstår och därför inte vet hur de nedärvs. En orsak kan vara gendoseffekt, att de här hundarna har fler än två kopior av ridge-mutationen. En annan orsak kan vara att flera gener, samt miljön inverkar på mutationen. Skulle det vara så att det är en egenskap som nedärvs kommer dessa hundar förmodligen fortsätta vara uteslutna från avel. Om de däremot ger avkomma med normal ridge ser jag inget hinder för att de skulle kunna användas i avel och på så vis bidra till en ökad genetisk variation. Mer forskning på området skulle kunna ge större kunskap om ridgen och om det finns en gendoseffekt samt om flera oupptäckta gener eller miljön inverkar.

Folsyra

Innan något avelsprogram med ridgelösa hundar eller DNA-test för den DS-orsakande mutationen tagits fram, kan ett alternativ vara att berika kosten med folsyra för de tikar som är tänkta att gå i avel. Enligt Pitkin (2007) ger de studier som gjorts på människor det otvetydiga resultatet att risken för NTD minskar betydligt vid ett högt intag av folat/folsyra under första delen av graviditeten. Risken minskar ytterligare om folatkoncentrationen hos modern är hög redan innan befruktning. Den rapport som presenterades på Rhodesian Ridgeback World Congress 1996 ger enligt Carlsson (1999) samma resultat. Tikar som fått tillsatt folat/folsyra i dieten ger färre avkommor med DS.

Viktigt att notera är att denna studie inte har publicerats i en vetenskaplig tidskrift vilket gör att de slutsatser som drogs är svåra att värdera. Inga andra studier som visar samband mellan uppkomst av DS och folsyranivåer är kända. Innan en allmän rekommendation kan utfärdas behöver en studie som bekräftar dessa slutsatser göras.

Slutsats

För att minska andelen hundar med DS kan en bra början vara att tillsätta folsyra i dieten till tikar som ska paras. Folsyra i kombination med användningen av ridgelösa hundar i aveln kan vara ett effektivt sätt att genom avel minska frekvensen DS-drabbade hundar i populationen. Studier som konfirmerar Carlssons (1999) slutsatser bör dock genomföras innan användning av folsyra kan rekommenderas. Man bör också arbeta för att ta fram ett DNA-test för att upptäcka den DS-orsakande mutationen. När det blivit kommersiellt användbart borde det vara ett utmärkt sätt att få bukt med DS.

Referenser

- Carlsson, S. G. 1999. *The Rhodesian Ridgeback Today*, 118-121. New York: Howell Book House.
- Chamberlain, A. 2005. *Rhodesian ridgeback*, 12-19. New Jersey: Kennel Club Books.
- Copp, A. J., Greene, N. D. E. & Murdoch, J. N. 2003. The genetic basis of mammalian neurulation. *Nature Reviews Genetics* 4, 784-793.
- Green, N. S. 2002. Folic acid supplementation and prevention of birth defects. *The journal of nutrition* 132, 2356-2360.
- Karlsson, E. K., Baranowska, I., Wade, C. M., Salmon Hillbertz, N. H. C., Zody, M. C., Anderson, N., Biagi, T. M., Patterson, N., Rosengren Pielberg, G., Kulbokas III, E. J., Comstock, K. E., Keller, E. T., Mesirov, J. P., von Euler, H., Kämpe, O., Hedhammar, Å., Lander, E. S., Andersson, G., Andersson, L. & Lindblad-Toh, K. 2007. Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genom-wide association. *Nature genetics* 39, 1321-1328.
- Ornitz, D. M. & Itoh, N. 2001. Fibroblast growth factors. *Genome Biology* 2, 1-12.
- Pitkin, R. M. 2007. Folate and neural tube defects. *American Journal of Clinical Nutrition* 85, 285-288.
- Powles, N., Marshall, H., Economou, A., Chiang, C., Murakami, A., Dickson, C., Krumlat, R. & Maconochie, M. 2004. Regulatory analysis of the mouse *Fgf3* gene: control of embryonic expression patterns and dependence upon sonic hedgehog (Shh) signalling. *Developmental Dynamics* 230, 44 -56.
- Salmon Hillbertz, N. H. C. 2005. Inheritance of dermoid sinus in the Rhodesian ridgeback. *Journal of Small Animal Practice* 46, 71-74.
- Salmon Hillbertz, N. H. C. & Andersson, G. 2006. Autosomal dominant mutation causing the dorsal ridge predisposes for dermoid sinus in Rhodesian ridgeback dogs. *Journal of Small Animal Practice* 47, 184-188.
- Salmon Hillbertz, N. 2007. The origin of the ridge and associated anomalies in Rhodesian ridgebacks. *Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science*. Doctoral Thesis no. 2007:133.
- Salmon Hillbertz, N. H. C., Isaksson, M., Karlsson, E. K., Hellmén, E., Rosengren Pielberg, G., Savolainen, P., Wade, C. M., von Euler, H., Gustafson, U., Hedhammar, Å., Nilsson, M., Lindblad-Toh, K., Andersson, L. & Andersson, G. 2007. Duplication of *FGF3*, *FGF4*, *FGF19* and *ORAOV1* causes hair ridge and predisposition to dermoid sinus in Ridgeback dogs. *Nature genetics* 39, 1318-1320.
- Specialklubben Rhodesian Ridgeback Sverige. April 2008. *Rasbeskrivning Rhodesian Ridgeback*. <http://www.srrs.org/index.php?pageId=11> (2008-04-25)
- Svenska Kennelklubben. April 2008. *Standard för Rhodesian ridgeback*. <http://kennet.sk.se/rasinfo/pdf/FCI146.pdf> (2008-04-15)

Svenska Livsmedelsverket. April 2008. *Folat, folsyra.*
http://www.slv.se/templates/SLV_Page.aspx?id=13828&epslanguage=SV (2008-04-17)