



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjursgenetik

Genetisk bakgrund till ataxi hos hund

Cecilia Hjelm



Examensarbete / SLU, Institutionen för husdjursgenetik,
479
Uppsala 2015

Examensarbete, 15 hp
– Kandidatarbete
(Litteraturstudie)

Agronomprogrammet–Husdjur



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjursgenetik

Genetisk bakgrund till ataxi hos hund

Genetic background to ataxia in dogs

Cecilia Hjelm

Handledare:

Göran Andersson, SLU, Institutionen för husdjursgenetik

Examinator:

Katja Nilsson, SLU, Institutionen för husdjursgenetik

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Kandidatarbete i husdjursvetenskap

Kurskod: EX0553

Program: Agronomprogrammet–Husdjur

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2015

Omslagsbild: Cecilia Hjelm

Serienamn, delnr: Examensarbete / SLU, Institutionen för husdjursgenetik, 479

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: Cerebellär ataxi, hund, genetisk bakgrund, *SPTBN2*, *SEL1L*, *RAB24*, *GRM1*, människa, miljöeffekter

Key words: Cerebellar ataxia, canine, genetic background, *SPTBN2*, *SEL1L*, *RAB24*, *GRM1*, human, environmental effect

Sammanfattning

Ataxi är då hunden har svårt att koordinera sina rörelser och orsakas av att nervsystemet inte fungerar som det ska och degenereras. Degeneration av cerebellum och då specifikt purkinjecellerna och granulacellerna ger en form av ataxi kallat cerebellär ataxi. Denna typ av ataxi uppvisas genom att hunden (*Canis lupus familiaris*) står bredbent, har muskelkramper, obalanserad gång och ögonrullningar. Den genetiska bakgrunden till cerebellär ataxi hos hund finns beskriven hos flera raser, däribland beagle, finsk stövare, old english sheepdog, gordonsetter och coton de tuléar. Hos alla dessa raser nedärvs sjukdomen autosomt recessivt och de orsakande mutationerna ger olika dysfunktioner inom nervcellerna som gör att de inte kan fungera som de ska och degenereras. Även människor kan utveckla ataxi och här är den genetiska bakgrunden mer känd än hos hund. Två av de gener som är orsaken till ataxi hos hund är också orsaken till ataxi hos människor. Ataxi hos människor kan, till skillnad från hundar, behandlas och då oftast med hjälp av rehabilitering av olika slag. Förutom att den genetiska bakgrunden är en risk för att utveckla ataxi, kan effekterna av miljömässiga riskfaktorer som till exempel toxiner påverka sjukdomens fenotyp. Kviksilver och alkohol har visats vara några faktorer som orsakar cerebellär ataxi. Dessutom kan andra sjukdomstillstånd som stroke vara en riskfaktor för att utveckla cerebellär ataxi. I framtiden behövs mer forskning för att kunna kartlägga den genetiska bakgrunden till ataxi hos hund. Då det idag inte finns någon behandling av ataxi hos hund behövs även detta område utforskas.

Abstract

Incoordination of the body's movements is called ataxia and is caused by a dysfunction and degeneration of the nervous system. Degeneration of the cerebellum and especially the Purkinje cells and granular cells causes a form of ataxia called cerebellar ataxia. The signs for this type of ataxia in the dog (*Canis lupus familiaris*) is a wide-based stance, muscle spasms, unbalanced walk and eye rolls. The genetic background for canine cerebellar ataxia is described in several breeds including the Beagle, Finnish hound, Old English Sheepdog, Gordon Setter and Coton de Tuléar. In all these breeds, the disease is inherited in an autosomal recessive manner and the known causative mutations evokes different dysfunctions within the nerve cells, making them unable to function properly and are therefore degenerated. Humans can also develop ataxia and the genetic background in humans has been more studied than in dogs. Two genes that are associated with cerebellar ataxia in dogs are also associated with cerebellar ataxia in humans. In contrast to dogs, rehabilitation methods for treating cerebellar ataxia in humans has been more developed. Besides the genetic background for risk of developing ataxia, the effects of environmental risk factors such as toxins can influence the disease phenotype. For example mercury and alcohol has been shown to cause cerebellar ataxia. Furthermore, other conditions such as stroke can be a risk factor for development of cerebellar ataxia. In the future, more research is needed in the genetic field to be able to map more genetic backgrounds to ataxia. Research about different treatment methods for ataxia in dogs is also needed.

Introduktion

För att kroppen ska fungera ändamålsenligt måste cellerna i kroppen kunna kommunicera med varandra, systemen som är ansvariga för denna kommunikation är nervsystemet och det endokrina systemet. Nervsystemet är dock det som har snabbast kommunikation, det mottar konstant information och tolkar denna för att sedan ge order till kroppen om vad som ska ske (Sjaastad *et al.*, 2010). När kommunikationen inte fungerar kan det visa sig genom ataxi, det vill säga förekomsten av okoordinerade muskelrörelser. Den bakomliggande orsaken till ataxi kan bero på stroke, toxiner, dysfunktion i immunförsvaret, infektioner, trauma, hormonella störningar, neoplastiska sjukdomar eller nedärvda mutationer i arvsmassan. De kända mutationerna nedärvs antingen autosomt dominant, autosomt recessivt, könsbundet eller mitokondriellt. Ärftlig ataxi är oftast kronisk och progressiv (Mancuso *et al.*, 2014) och beroende på typ av ataxi kan sjukdomen visa sig då hunden är valp, unghund eller vuxen (Urkasemsin & Olby, 2014). Hos hund nedärvs cerebellär ataxi vanligtvis autosomt recessivt då båda könen är drabbade och föräldrarna som får affekterade avkommor är friska (Zeng *et al.*, 2011; Forman *et al.*, 2012; Kyöstilä *et al.*, 2012; Agler *et al.*, 2014). Ingen behandling finns att hitta i litteraturen då symptomen ofta är så pass grava att djuren avlivas. Olika företag erbjuder dock DNA-test för att ge djurägaren information om deras avelsdjur bär på de muterade generna samt för att motverka spridningen av de defekta generna (Kennel Club, 2015).

Idag är ataxi beskrivet hos många olika hundraser, till exempel beagle, rhodesian ridgeback, australisk kelpie, finsk stövare, old english sheepdog, gordonsetter och engelsk bulldog för att nämna några. Den genetiska bakgrunden är dock inte kartlagd hos alla raser (Urkasemsin & Olby, 2014). Ataxi drabbar även människor och där har man funnit minst 36 olika typer av autosomt dominant cerebellär ataxi, 20 autosomt recessiva, två könsbundna och flera associerade med mitokondriella defekter (Mancuso *et al.*, 2014).

Gener styr så mycket mer än vad man tänker på i vardagen och det är inte förrän de inte fungerar som de ska som de oftast uppmärksammas. Detta gör gener och genetik till ett väldigt intressant ämne att studera och cerebellär ataxi är en av de sjukdomar som uppvisar tydliga yttre symptom. Därför är syftet med denna litteraturstudie att ge en genetisk bakgrund till ataxi med en fördjupning i cerebellär ataxi, samt se om det finns någon orsakande genförändring som är gemensam för flera raser. Då även människor drabbas av ataxi är det av intresse att se om det finns några skillnader i de genetiska riskfaktorerna mellan hund och människa generellt.

Uppdelning av ataxi

Ataxi brukar delas upp i de olika subtyperna proprioceptiv ataxi, vestibulär ataxi och cerebellär ataxi. Vilken klassificering som görs beror på vilken del av nervsystemet som är påverkat (Côté, 2007). Sjukdomar som ger nedärvbar ataxi kan även delas in i cerebellär cortical degeneration, spinocerebellär degeneration, multipla system som påverkas, cerebellära ataxier utan signifikant degeneration av nerverna och episodiska ataxier.

Cerebellär cortical degeneration är en degeneration av nervvävnad i cerebellum, spinocerebellär degeneration involverar medulla oblongata, medulla spinalis och ibland även cerebellum. När det är multipla system involverar det cerebellum, medulla oblongata och prosencephalon. Episodiska ataxier har inga histologiska förändringar och ger bara episoder av ataxi. Under de perioder som ataxin inte visar sig har individen heller inte några tecken på andra neurologiska problem (Urkasemsin & Olby, 2014). Denna litteraturstudie fokuserar på uppdelningen enligt proprioceptiv, vestibulär och cerebellär ataxi.

Proprioceptiv ataxi

Proprioception handlar om förmågan att känna kroppsdelar i position till rummet och kan delas upp i två olika system; det generella proprioceptiva systemet och det speciella proprioceptiva systemet. Det generella proprioceptiva systemet har sina dendritiska zoner i receptorer i muskler, sensor och leder. Om det sker förändringar av längden eller positionen i musklerna, sensorerna eller lederna som receptorerna är kopplade till känner receptorerna av detta. Det speciella proprioceptiva systemet syftar till det vestibulära systemet som beskrivs nedan (de Lahunta & Glass, 2009). Ataxin uppstår när de proprioceptiva nervbanorna inte fungerar normalt i medulla spinalis, medulla oblongata och cerebrum. Det kan vara en störning i en eller flera av dessa delar (Côté, 2007). Vid proprioceptiv ataxi är hunden inte medveten om vart den har dess hals, bål eller ben vid rörelse (de Lahunta & Glass, 2009).

Vestibulär ataxi

Det vestibulära systemet är en del av balanssinnet och brukar delas upp i det perifera vestibulära systemet, som har receptorer i innerörat, och det centrala vestibulära systemet, som finns i medulla spinalis och i cerebellum. För att djuret ska ha förmågan att hålla sina ögon, bål och ben rätt relativt till huvudpositionen används både det perifera och centrala vestibulära systemet (Lorenz *et al.*, 2011). Hundar som drabbats av vestibulär ataxi ses luta sig, ramla, rulla sig eller cirkla sig mot den sida som är drabbad (Rossmeisl, 2010). Kliniskt sett är det väldigt små skillnader på om djurets ataxi beror på en störning i det perifera eller centrala systemet (de Lahunta & Glass, 2009)

Cerebellär ataxi

Cerebellum har som sin främsta uppgift att kontrollera och justera kroppens rörelser. Cerebrums yttre lager, cortex, skickar signaler för att bestämma muskelrörelser och cerebellum får då samtidigt information om vilken kroppsrörelse som är tänkt att utföras. Cerebellum mottar även information från balansorganet i örat, muskelspoler och sensoriska celler i sensor och leder så att den vet vilka rörelser som faktiskt utförs. Cerebellum kan sedan jämföra vilken rörelse som var tänkt att utföras med vilken som faktiskt utfördes och sedan korrigera detta genom att skicka information via talamus till den del av cortex som styr muskelrörelser. Det skickas även signaler till medulla oblongata för de kommandosignaler som sänds till motorneuronerna i medulla spinalis, vilket gör att rörelserna blir mjuka och koordinerade (Sjaastad *et al.*, 2010). Cerebellum innehåller cirka 50 % av hjärnans alla neuroner men består av endast cirka 10 % av den totala hjärnvolymen vilket beror på cerebellums veckade struktur. Cerebellum har ett molekylärt lager följt av ett lager med

purkinjeceller och ett lager med granulaceller. Purkinjecellerna är de neuroner som främst koordinerar och skickar ut signaler. De får sin information från en ingående impuls från en stor neuron som finns i medulla oblongata (Fitzpatrick *et al.*, 2007). Granulacellerna har axon som inte är myeliniserade och som fungerar som parallella fibrer i det molekylära lagret och har korsande synapser med purkinjecellerna (Dewey, 2008).

Cerebellum kan delas in på olika sätt beroende på var fokus sätts. Den kan delas in beroende på funktionalitet, utveckling eller anatomi. Vid uppdelning beroende på funktionalitet delas cerebellum in i vestibulocerebellum, spinocerebellum och cerebrocerebellum. Vestibulocerebellum reglerar balans och koordination av ögon- och huvudrörelser, spinocerebellum reglerar musklernas form och de omedvetna rörelserna som är nödvändiga för hållning och rörelse och cerebrocerebellum kontrollerar rörelsens riktning, timing och styrka (Dewey, 2008).

Cerebellär ataxi beror på sjukdomar som påverkar cerebellum. Denna typ av ataxi går under flera olika benämningar som cerebellär cortical degeneration, cerebellär abiotrofi och cerebellär degeneration. Beroende på vilken sorts neuroner som är påverkade så kan cerebellär ataxi delas upp i sjukdomar som påverkar purkinjecellerna eller granulaceller (Urkasemsin & Olby, 2014). Cerebellär ataxi gör att djuret har svårt med finmotoriken (Côté, 2007). Detta uppvisas oftast genom att hunden har en bredbent ställning, dysmetri, obalanserad rörelse, muskelspänningar och kramper. Det kan också orsaka saknad reaktionsförmåga, spontana ögonrullningar och okontrollerade ögonrörelser (Urkasemsin & Olby, 2014).

Genetisk bakgrund

Metoder

Genome-wide association study – GWAS

När en GWAS utförs försöker man hitta regioner i genomet där de sjuka djuren är lika och de friska kontrolldjuren skiljer sig från de sjuka. Detta görs genom att genomet scannas hos alla individer i en kontroll population med en panel av genetiska markörer, vanligtvis single nucleotide polymorphisms (SNPs) som täcker hela genomet. Associationen som hittas kan antingen vara en enkel markör i kopplingsojämvikt med den orsakande mutationen, en associerad haplotyp eller den orsakande mutationen. Den genetiska variationen hos hund är låg som en följd av genetiska flaskhalsar, den första vid domesticering av varg och den senaste vid skapandet av de moderna raserna. Detta innebär att inom en hundras är graden av homozygoti hög, de gemensamma haplotyperna är långa och graden av kopplingsojämvikt är hög. De flesta hundraser utvecklades från ett fåtal individer för cirka 200 år sedan, vilket ur ett genetiskt perspektiv inte är så länge sedan. På så sätt är en GWAS en effektiv metod eftersom inte så många rekombinationer har skett och man kan därför hitta långa block av haplotyper som förhoppningsvis är gemensam för individer som delar en viss egenskap. Därmed behövs färre markörer hos hunden än hos människan och färre individer behöver ingå i studien och hos hund uppskattas det att om egenskapen nedärvs autosomalt recessivt behövs

endast 20 fall och 20 kontroller. Den population som används bör ha väldefinierade kriterier för vilka individer som inkluderas eller exkluderas för både sjuka och friska djur. Vid användandet av hundar ses det som lättast att använda sig av slumpmässigt valda sjuka individer som inte är släkt samt kontroller istället för hela familjer. Då falskt positiva resultat vill undvikas på grund av heterogenitet effekt är det viktigt att vi undviker stratifiering vilket vi gör genom att välja orelaterade individer från samma populationsstruktur (Wilbe, 2013).

RNA-sekvensering

Vid RNA-sekvensering sekvenseras transkriptomet, det vill säga alla mRNA som är uttryckta, vilket är mycket billigare än att sekvensera hela genomet. Denna metod missar dock gener som inte uttrycks eller endast uttrycks i låga nivåer i den studerade vävnaden men kan istället ge ytterligare information av nivån av genuttryck och splitsningsmönster. RNA-sekvensering kan fånga 81 % av exonernas variationer från de gener som uttrycks så länge som generna uttrycks rikligt har det visat sig då det mänskliga exomet undersöktes (Cirulli *et al.*, 2010).

Mutationer

Olika mutationer har identifierats som bakomliggande orsak till cerebellär ataxi hos olika hundraser. Nedan följer en beskrivning av fyra olika identifierade mutationer. En sammanställning finns i Tabell 1.

SPTBN2

En mutation i *SPTBN2*-genen tros ligga bakom orsaken till cerebellär ataxi hos beagles. *SPTBN2* kodar för proteinet β -III spektrin som tillhör familjen spektriner vilka är cytoskelettets proteiner. Proteiner i spektrinfamiljen är komponenter i plasmamembranet där det begränsar och stabiliserar proteiner som uttrycks på cellytan. β -III spektrin är främst uttryckt i purkinjecellerna (Forman *et al.*, 2012) där det spelar en viktig roll för att den dendritiska strukturen hos purkinjecellerna utvecklas normalt och underhålls. Vid brist på β -III spektrin är det dendritiska trädets inte längre i ordning men det håller fortfarande samma längd. Dendriterna blir dock tunnare och densiteten i ryggraden minskar vilket resulterar i att fördelningen av de dendritiska proteinerna är förändrad (Gao *et al.*, 2011).

I en studie av Forman *et al.* (2012) som utfördes för att finna den muterade genen som orsakade cerebellär ataxi ingick en beagle som diagnostiserades vid fyra veckors ålder. Valpen hade då inte fått ökade besvär utan varit stabil sedan den först visade tecken på problem att gå. Ägaren valde att avliva hunden och den histologiska undersökningen visade på en mild grad av minskat antal purkinjeceller, vilket konfirmerade deras diagnos. Denna studie använde sig av RNA-sekvensering för att hitta kandidatgener och kom fram till att det måste vara en mutation i *SPTBN2*-genen som ligger bakom cerebellär ataxi hos beagles. För att konfirmera detta genotypades en population bestående av 165 hundar, som var syskon och halvsyskon till den diagnostiserade beageln, samt ett dataset av beagles från en annan studie. Resultaten visade att de som var sjuka var homozygota för mutationen. Resterande hundar var antingen heterozygota eller homozygota för vild-typ allelen. Förutom de 165 beaglarna genotypades 513 andra hundar från 37 olika raser för att se om mutationen även fanns hos

andra raser och resultaten visade att alla var homozygota för vild-typ allelen. Den mutation som hittades i *SPTBN2* var en frameshift mutation där åtta baspar hade fallit bort på exon 29. Då inget β -III spektrin hittades som var varken helt eller i delar föreslogs det att denna mutation orsakar en utslagning av *SPTBN2* (Forman *et al.*, 2012).

SEL1L

Hos finska stövare hittades en mutation i *SEL1L*-genen som tros vara orsaken till att denna ras drabbas av cerebellär ataxi (Kyöstilä *et al.*, 2012). Forskargruppen som fann mutationen i *SEL1L* diagnostiserade tio hundar från olika kullar med cerebellär ataxi. De uppvisade tecken på ataxi från nio veckors ålder och diagnostiserades då de var tre till fyra månader gamla. Magnetrontgen av hjärnan visade på en krympning av cerebellum och den histologiska undersökningen visade på en minskning av purkinjecellerna i hela cerebellum. Sjukdomsbilden hade förvärrats och därför avlivades alla hundar. För att finna genen som orsakade degenerationen gjordes en GWAS där 31 hundar genotypades (13 sjuka, elva föräldradjur som bar på genen och sju friska syskon). Resultaten visade att en mutation på kromosom åtta var orsaken. Genom jämförelser och utslutningar av gener som var kända för vissa funktioner kom de fram till att en mutation i *SEL1L*-genen var en sannolik orsak till cerebellär ataxi hos de finska stövarna. Det var en missensemutation på exon 19 som orsakade ett utbyte av cystidin mot tymidin, vilket resulterade i att istället för att koda för serin så kodades det för prolin. Penetransen visades vara 100 %.

SEL1L kodar för ett glykoprotein som är en komponent i ett proteinkomplex i det endoplasmatiska nätverket som benämns som endoplasmic reticulum associated protein degradation (ERAD). Detta komplex märker felveckade och icke sammansatta polypeptider för degradering. I studien av de finska stövarna kunde tecken på stress av det endoplasmatiska nätverket observeras då de affekterade hundarna hade förhöjda värden av dessa ämnen, vilket föreslogs vara en reaktion på att *SEL1L* inte fungerade som den skulle. Stressen skulle då leda till en förtidig degeneration av purkinjecellerna, vilket tros vara en del av förklaringen till varför de finska stövarna drabbats av cerebellär ataxi (Kyöstilä *et al.*, 2012).

RAB24

Old english sheepdog och gordonsettrar drabbas av en cerebellär ataxi som uttrycker sig senare i livet och tros uppstå på grund av en mutation i *RAB24*-genen. De hundar som diagnostiserades i samband med att mutationen hittades var mellan två och ett halvt till 13 år gamla och den cerebellära ataxin hade långsamt blivit värre. Vid en histologisk undersökning sågs en dramatisk minskning av purkinjeceller i hela cerebellum och vakuoler kunde observeras i den vita massan i cerebellum. Vid kopplingsanalys kopplades sjukdomen till en mutation på kromosom fyra hos hundarna. Efter en GWAS då 54 hundar av rasen old english sheepdog (14 sjuka och 40 friska) genotypades hittades en associerad region som bedömdes innehålla en muterad gen som kunde vara orsaken till sjukdomen. Efter ytterligare jämförelser och utslutningar angavs *RAB24*-genen som den starkaste kandidaten till att vara den orsakande genen. Genen sekvenserades och mutationen som hittades var i första exonet och bytte ut adenin mot cytosin vilket gjorde att det istället för glutamin kodades för prolin.

RAB24 kodar för ett protein som uttrycks mest i hjärnan och som hjälper till vid membrantransport inom cellen. *RAB24*-protein har en viktig roll i autofagi då protein och organeller flyttas till lysosomerna där de degraderas vilket genererar energi till cellen. Det föreslogs att en icke fungerande autofagi orsakar neurodegeneration och då speciellt i purkinjecellerna som har höga metaboliska krav.

Efter att kandidatmutationen i *RAB24*-genen hittades undersöktes andra raser för att se om en liknande mutation kunde vara orsaken till cerebellär ataxi även där. Affekterade gordonsetterar visade sig vara homozygota för samma region och då dessa två raser ingår i två olika kategorier av hundar så tror man att det är en så kallad "founder" mutation (Agler *et al.*, 2014).

GRM1

Coton de tuléar tros ha en mutation i *GRM1*-genen som gör att de drabbas av cerebellär ataxi (Zeng *et al.*, 2011). De förändringar som var i cerebellum kunde observeras i det molekyllära lagret där det fanns mindre presynaptiska parallella fibrer. Ryggraden i purkinjecellernas dendriter uttrycktes också postsynaptiskt men saknade presynaptiska terminaler (Coates *et al.*, 2002). En GWAS utfördes med tolv sjuka och tolv friska coton de tuléar, där kontrollhundarna var kliniskt normala syskon eller andra hundar som var nära släkt med den affekterade hunden. En stark association med fenotypen och en SNP på kromosom ett hittades. På kromosom ett hittades fyra gener som kunde orsaka sjukdomen men *GRM1* troddes vara den orsakande genen. En av orsakerna till detta var att möss (*Mus musculus*) som har brist på *GRM1* har liknande fenotyper som de hundar som har cerebellär ataxi. Därefter sekvenserades *GRM1* igen och en mutation på exon åtta hittades som var en insertion av 62 baspar som var adenosinrik och som möjligtvis var en frameshiftmutation (Zeng *et al.*, 2011). *GRM1* har beskrivits koda för metabotropisk glutamat receptor 1 (mGlu1). mGlu1 är involverad i viktiga funktioner för nervsystemet som till exempel frisläppandet av neurotransmittorer (Ferraguti *et al.*, 2008). Det har också beskrivits ha en viktig roll i det sista steget i bildandet av neurala kretsen genom att hjälpa till med de viktiga finjusteringarna under utvecklingen (Ferraguti & Shigemoto, 2006).

Tabell 1. Sammanställning av vilka gener som en mutation har upptäckts i som orsakar cerebellär ataxi och till vilken ras de är kopplade till

Ras:	Gen:	Referens:
Beagle	<i>SPTBN2</i>	(Forman <i>et al.</i> , 2012)
Finsk stövare	<i>SEL1L</i>	(Kyöstilä <i>et al.</i> , 2012)
Gordonsetter	<i>RAB24</i>	(Agler <i>et al.</i> , 2014)
Old english sheepdog	<i>RAB24</i>	(Agler <i>et al.</i> , 2014)
Coton de tuléar	<i>GRM1</i>	(Zeng <i>et al.</i> , 2011)

Diagnostisering

Undersökning

Då hunden inkommer till veterinären görs det en grundlig undersökning där ägaren får beskriva hundens allmäntillstånd (van der Merwe & Lane, 2001). Hundens rörelsemönster observeras och hundens proprioception, ryggmärgens reflexer och kranialnerven observeras (Forman *et al.*, 2012). Analys av urin (van der Merwe & Lane, 2001), totala antalet blodceller och cerebrospinalvätskan görs samt en biokemisk serumanalys för att utesluta infektion (Gandini *et al.*, 2005). En magnetröntgen (Kyöstilä *et al.*, 2012) eller datortomografi (Gandini *et al.*, 2005) kan även utföras. Om hunden avlivas kan en histologisk undersökning göras av cerebellum (Forman *et al.*, 2012).

De flesta hundar med cerebellär ataxi är i bra skick och uppvisar ett bra allmäntillstånd (van der Merwe & Lane, 2001; Gandini *et al.*, 2005;). Rörelsemönster som observerats visar på att hunden ofta står bredbent, förlorar balansen och har en svajande (Gandini *et al.*, 2005) eller oorganiserad gång (van der Merwe & Lane, 2001). Då proprioceptionen kontrolleras om den är påverkad ses både normal positionering (Forman *et al.*, 2012) och onormal positionering (Gandini *et al.*, 2005; Coates *et al.*, 2002; van der Merwe & Lane, 2001). Ryggmärgens reflexer är normala vilket även kranialnerven är (Kyöstilä *et al.*, 2012). Analyser av urin (Gandini *et al.*, 2005), totala antalet blodceller, cerebrospinalvätska och den biokemiska analysen visar alla på värden inom det normala (Kyöstilä *et al.*, 2012). Datortomografien visade inte på något avvikande (Coates *et al.*, 2002) medan magnetröntgen kan visa på antingen en normal cerebellum (Forman *et al.*, 2012) eller en cerebellum som har minskat i storlek i förhållande till storhjärnan (Kyöstilä *et al.*, 2012). Vid en histologisk undersökning ses oftast en minskning av purkinjecellerna (Kyöstilä *et al.*, 2012).

Människor

Ataxi uppvisas hos människor precis som hos hundar genom obalans, inkoordination och dysmetri av armar och ben medan en uppgift utförs. Då cerebellum är påverkad uppvisas oftast andra symptom samtidigt som de vanliga tecknen på ataxi, till exempel onormala ögonrörelser, ögonrullningar, talstörningar och svårighet att utföra motsatta rörelser snabbt efter varandra. Vid diagnostisering skiljer man ofta på cerebellär ataxi som orsakats av miljöeffekter och sådana typer som är orsakade av genetiska faktorer genom en grundlig medicinsk historia och efterforskningar av nedärvningsmönstret i släkten.

Neurologiska sjukdomar beror oftast inte av att en del av hjärnan är påverkad utan det är komplexa sjukdomar som påverkar flera olika delar. Sjukdomarna påverkar då oftast både cerebellum och medulla oblongata. De sjukdomar som är kända som endast ger en degeneration av cerebellum är Tay-Sachs sjukdom och autosomal recessiv cerebellär ataxi typ 1 (ARCA1). Tay-Sachs sjukdom är en recessivt nedärvd sjukdom som inte går att bota där den drabbade saknar enzymet beta-hexosaminidas A (HEXA). Detta är en barnsjukdom som även kan uppkomma vid vuxen ålder och visar på en tillbakabildning av cerebellum på magnetröntgen. ARCA1 beror på en mutation i *SYNE1*-genen och är en långsamt progressiv

sjukdom som ger talstörningar och tillbakagång av cerebellum vid vuxen ålder (Mancuso *et al.*, 2014).

Vid behandling av cerebellär ataxi används rehabilitering av olika sorter och denna behandling brukar delas upp i två olika delar beroende på vad behandlingen ämnar att förbättra. Det finns en sorts rehabilitering som vill förbättra den funktionella förmågan genom att kompensera för den underliggande bristen. Den andra vill förbättra funktionen genom att använda stärkande tekniker som involverar en anpassning och återhämtning av det neuromuskulära systemet (Marsden & Harris, 2011). Hos hund fanns ett antal mutationer i gener som ger cerebellär ataxi (Zeng *et al.*, 2011; Forman *et al.*, 2012; Kyöstilä *et al.*, 2012; Agler *et al.*, 2014). *GRM1* och *SPTBN2* är gener som även hos människa orsakar ataxi vid mutation (Guergueltheva *et al.*, 2012; Lise *et al.*, 2012; Cho & Fogel, 2013).

GRM1

Medfödd cerebellär ataxi har upptäckts hos en liten grupp romer där föräldrarna var kliniskt friska vilket tyder på en autosomt recessiv nedärvning och där *GRM1*-genen tros vara orsaken. Två olika mutationer hittades, den ena mutationen orsakade en deletion i slutet av exon åtta och tros ta bort en asparginrest. Den andra mutationen var vid en splitsningsposition vid intron åtta och förväntades ha effekter som gjorde att exon åtta hoppades över vid splitsning av mRNA, vilket gör att endast den ena mutationen visar sig. Det de fann visade på att cellerna då skulle ge onormala mGluR1 receptor molekyler som inte fungerade (Guergueltheva *et al.*, 2012).

SPTBN2

Hos människor med spinocerebellär ataxi typ 5 som utvecklats senare i vuxenlivet har en mutation i *SPTBN2*-genen hittats. Denna mutation är en missensemutation som ger en substitution i exon tolv, denna substitution är heterozygot och denna sort nedärvs autosomt dominant (Cho & Fogel, 2013). En annan mutation som finns i *SPTBN2*-genen är en nonsens mutation som ger ett stoppkodon då cytosin byts ut mot adenin. Denna mutation tros orsaka spectrin-associated autosomal recessive cerebellar ataxia typ 1 (SPARCA 1), vilket nedärvs autosomt recessivt och drabbar människor redan när de är barn (Lise *et al.*, 2012).

Miljöeffekter

Förutom de nedärvda effekterna finns andra faktorer som kan ge cerebellär degeneration, som till exempel stroke, toxiner, dysfunktion av immunförsvaret, infektioner, trauma, hormonella störningar och neoplastiska sjukdomar (Mancuso *et al.*, 2014). Effekten av kvicksilver har studerats och forskarna har sett att upptaget och frisläppandet av glutamat i granulacellerna påverkas av kvicksilver. Då glutamat är den centrala stimulerande neurotransmittorn kan detta påverka granulacellerna mycket (Fonfría *et al.*, 2005).

Alkohol ger en påverkan på nervsystemet, vilket kan påverka cerebellum och ge kliniska symptom som ataxi och dysmetri. Detta drabbar oftast kroniska alkoholister som har druckit mycket i över tio år. Det som har studerats hos kroniska alkoholister är minskad hjärnvikt,

förstoring av ventrikeln och en synlig breddning av fördjupningen i barken i cerebellum. Om personen är avhållsam mot alkohol kan vissa av effekterna vara reversibla. Det har föreslagits att alkoholkonsumtionen gör att personen inte får i sig den näringen som behövs och därmed kan tiaminbrist uppstå som även det är associerat med degeneration av cerebellum. Då det finns många kroniska alkoholister ses cerebellär degeneration orsakat av alkohol som den största cerebellära sjukdomen idag (Fitzpatrick *et al.*, 2008).

Diskussion

Då ataxi är ett väldigt brett begrepp finns idag många olika uppdelningar vilket gör det svårt att förstå skillnaderna och att överblicka komplexiteten. Orsaken till att det är svårt att överblicka kan vara att ataxi bero på många olika saker och det finns många infallsvinklar. Ur ett anatomiskt perspektiv utgår man från vilka delar av nervsystemet som är påverkat och sjukdomen delas upp i proprioceptiv ataxi, vestibulär ataxi och cerebellär ataxi (Côté, 2007). Den cerebellära ataxin kan även delas upp i mindre delar då olika delar av cerebellum kan vara den orsakande faktorn (Dewey, 2008). Det är dock inte alltid enkelt då det ibland är flera olika delar som är påverkade. Denna synvinkel kan vara intressant ur ett veterinärmedicinskt perspektiv. Delas ataxin istället upp beroende på hur den nedärvs kan det vara mer intressant för hunduppfödare och forskning inom genetiken. Ataxi kan dock bero på många olika saker och delas det endast upp i hur det nedärvs så hanteras endast de ataxier som har en genetisk bakgrund. Det finns även ataxier som orsakas av stroke, toxiner, dysfunktion av immunförsvaret, infektioner, trauma, hormonella störningar och neoplastiska sjukdomar (Mancuso *et al.*, 2014). Hos cerebellära ataxier är det oftast purkinjecellerna som visar på degeneration och av de fall som är beskrivna sker det oftast i hela cerebellum vilket gör att det inte går att dela upp det i den minsta beståndsdel av vilka delar som den påverkar (Forman *et al.*, 2012; Kyöstilä *et al.*, 2012; Agler *et al.*, 2014).

Av de ataxier som uppstår på grund av nedärvda mutationer och som påverkar hela cerebellum finns det idag minst fyra kända gener hos hund som ger cerebellär ataxi (Zeng *et al.*, 2011; Forman *et al.*, 2012; Kyöstilä *et al.*, 2012; Agler *et al.*, 2014). Mutationen i *SPTBN2*-genen var en frameshiftmutation som minskar uttrycket av β -III spektrin och därmed ger ett förändrat cytoskelett hos nervcellerna, vilket gör att det dendritiska trädets inte kan hålla samma struktur och därmed degenereras (Forman *et al.*, 2012). I denna studie gjordes inte en GWAS som de andra studierna gjort utan en RNA-sekvensering gjordes istället då det var en billigare och bättre metod då de gener som inte uttrycks normalt kan observeras. Det är dock samtidigt en lite mer osäker metod då onormalt uttryckta gener kan ge fel associationer. De tittade dock på väldigt många hundar vilket gör att risken för att det var fel mutation de hittade minskar.

Mutationen i *SEL1L*-genen som drabbar de finska stövarna tros vara en missensemutation som gör att en komponent i ERAD-komplexet inte kodas ordentligt vilket gör att stress uppstår i det endoplasmatiska nätverket och som en effekt av detta degraderas cellerna (Kyöstilä *et al.*, 2012). I denna studie gjordes en GWAS och enligt Wilbe (2013) bör det då

användas 20 friska och 20 sjuka hundar. I studien användes dock inte så många hundar vilket gör att denna studie skulle kunna vara missvisande då de kan ha övertolkat resultaten.

Old english sheepdog och gordonsettrar som drabbas av cerebellär ataxi har en mutation i *RAB24*-genen vilket gör att autofagin inte fungerar som den ska. Purkinjeceller kräver mycket metabolisk energi och om autofagin inte fungerar får de inte den energin de behöver och de kan då degraderas. De använde sig även här av GWAS som metod för att hitta den muterade genen. Då de använde sig av 14 affekterade individer och 40 friska kontrollhundar så kan det anses vara en säker analys. Mutationen i *GRM1*-genen skiljer sig lite från de andra mutationerna då det var det molekylära lagret som var påverkat. Denna mutation tros vara associerad till en störning av neurotransmittorer och utvecklandet av nervsystemets kretsar (Zeng *et al.*, 2011).

Orsaken till att vissa studier inte använde sig av tillräckligt många individer när de utförde sin GWAS kan vara att det är svårt att hitta individer som är sjuka och ännu svårare att hitta tillräckligt många friska kontrollhundar. Ytterligare en faktor som gör att de kan ha övertolkat sina analyser eller fått missvisande resultat kan vara att det är svårt att hitta hundar som är från samma populationsstruktur. Det är viktigt att både sjuka och friska hundar kommer från samma population så att det inte finns genetiska varianter som skiljer sig mellan sjuka och friska som inte har något att göra med orsaken till sjukdom (Wilbe, 2013).

De mutationer som har beskrivits i denna litteraturstudie nedärvs alla autosomt recessivt (Zeng *et al.*, 2011; Forman *et al.*, 2012; Kyöstilä *et al.*, 2012; Agler *et al.*, 2014) vilket gör att färre individer visar upp denna fenotyp än om det skulle vara ett dominant anlag. Då aveln av olika hundraser har varit väldigt inriktad på att föra vidare speciella egenskaper har det gjort att variationen av gener inom rasen är väldigt liten (Wilbe, 2013). Detta gör att autosomt recessiva anlag riskerar att öka i populationen och det är därför viktigt att de som avlar har kunskap om detta och testar sina hundar för anlagen om test finns tillgängliga för dessa.

Vid diagnostiseringen bör en erfaren och specialiserad veterinär diagnostisera hundarna då det är vaga symptom som lätt kan misstas för andra sjukdomar. Oftast kan den cerebellära ataxin inte fastställas förrän vid en histologisk undersökning då detta egentligen är den enda säkra metoden för att fastställa cerebellär ataxi. En histologisk undersökning måste dock göras efter avlivning och endast om ägaren godkänner det (Forman *et al.*, 2012). Ägare har ofta ha en emotionell relation till sin hund och tanken på en histologisk undersökning kan därmed tänkas inte alltid vara särskilt lockande. Det kan även tänkas vara en kostnadsfråga om den histologiska undersökningen ska utföras och det ska finnas erfarna personer tillgängliga som kan göra det. Detta kan vara bidragande faktorer till att det idag inte finns någon bra statistik över ataxi hos hund sammantaget med att det är en väldigt komplex sjukdom.

Det finns idag ingen behandling av cerebellär ataxi och detta är något som borde ses som ett område som bör utforskas mer. Av de fall som beskrivits i litteraturen avlivas alla hundar då djuret lider av sina rörelsestörningar. Det finns dock genetiska tester som kan göras för att hitta mutationer i tid och inte avla vidare på den affekterade hunden (The Kennel Club, 2015).

På de affekterade djuren bedrivs det antagligen ingen avel, det som dock kan ses som en riskfaktor är de djur som är heterozygota för anlaget och det är dessa djur vi vill hitta för att förhindra en spridning av sjukdomen.

Människor kan också drabbas av ataxi och där står mer beskrivet i litteraturen än vad det gör för hund. Det har bedrivits mer forskning än vad som gjorts på hund och hos människor behandlas ataxi genom rehabilitering (Marsden & Harris, 2011). Två av de gener som är inblandade i cerebellär ataxi hos hund tros också vara inblandade i ataxi hos människor. Ataxin som orsakas av mutationer i *GRM1*-genen nedärvs precis som hos hund autosomt recessivt men beror där antagligen på två olika mutationer (Guergueltecheva *et al.*, 2012). I *SPTBN2*-genen ger två olika mutationer ataxi, men dessa är olika sorters mutationer då den ena nedärvs autosomt dominant och uppträder senare i livet (Cho & Fogel, 2013) medan den andra nedärvs autosomt recessivt och ses redan hos barn (Lise *et al.*, 2012).

Förutom att generna kan vara orsaken till ataxi så finns det ett antal miljöeffekter. Dessa är ett område som det bör forskas mer på hos hund då inget finns beskrivet i litteraturen. Hos människor finns det dock mer och alkohol ses där som den största orsaken till cerebellär degeneration.

Slutsats

Det finns idag många olika sätt som ataxi kan delas upp i och det finns ingen lätt uppdelning då det finns många olika perspektiv att se det från. Hos hund är mutationer funna i generna *SPTBN2*, *SEL1L*, *RAB24* och *GRM1* orsak till cerebellär ataxi och alla nedärvs autosomt recessivt. Gordonsetterar och old english sheepdog har en gemensam mutation som orsak till cerebellär ataxi och mutationen anses vara en "founder" mutation då raserna inte är nära släkt med varandra. Utförlig forskning krävs inom området så att fler mutationer kan kartläggas, olika behandlingsformer för hund bör utforskas för att förebygga symptomen och för att försöka hindra hundar från att avlivas.

Referenser

- Agler, C., Nielsen, D.M., Urkasemsin, G., Singleton, A., Tonomura, N., Sigurdsson, S., Tang, R., Linder, K., Arepalli, S., Hernandez, D., Lindblad-Toh, K., van de Leemput, J., Motsinger-Reif, A., O'Brien, D.P., Bell, J., Harris, T., Steinberg, S. & Olby, N.J. (2014). Canine Hereditary Ataxia in Old English Sheepdogs and Gordon Setters Is Associated with a Defect in the Autophagy Gene Encoding *RAB24*. *PLoS Genetics*. Vol. 10(2), ss.e1003991.
- Cho, E. & Fogel, B.L. (2013). A Family with Spinocerebellar Ataxia Type 5 Found to Have a Novel Missense Mutation within a *SPTBN2* Spectrin Repeat. *Cerebellum*. Vol. 12(29), ss. 162-164.
- Cirulli, E.T., Singh, A., Shianna, K.V., Ge, D., Smith, J.P., Maia, J.M., Heinzen, E.L., Goedert, J.J. & Goldstein, D.B. (2010). Screening the human exome: a comparison of whole genome and whole transcriptome sequencing. *Genome Biology*. Vol. 11(5), ss. R57-R57.
- Coates, J.R., O'Brien, D.P., Kline, K.L., Storts, R.W., Johnson, G.C., Shelton, G.D., Patterson, E.E. & Abbott, L.C. (2002). Neonatal Cerebellar Ataxia in Coton de Tulear Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. Vol. 16, ss. 680-689.
- Côté, E. (2007). *Clinical Veterinary Advisor Dogs and Cats*. St. Louis: Mosby Elsevier.
- de Lahunta, A. & Glass, E. (2009). *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*. 3rd edition. St. Louis: Saunders Elsevier.
- Dewey, C.W. (2008). *A Practical Guide to Canine & Feline Neurology*. 2nd edition. Ames: Wiley-Blackwell.
- Ferraguti, F., Crepaldi, L. & Nicoletti, F. (2008). Metabotropic glutamate 1 receptor: current concepts and perspectives. *Pharmacological reviews*. Vol. 60(4), ss. 536-581.
- Ferraguti, F. & Shigemoto, R. (2006). Metabotropic glutamate receptors. *Cell and Tissue Research*. Vol. 326(2), ss. 483-504.
- Fitzpatrick, L.E., Jackson, M. & Crowe, S.F. (2008). The relationship between alcoholic cerebellar degeneration and cognitive and emotional functioning. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. Vol. 32(3), ss. 466-485.
- Fonfría, E., Vilaró, M.T., Babot, Z., Rodríguez-Farré, E. & Suñol, C. (2005). Mercury compounds disrupt neuronal glutamate transport in cultures mouse cerebellar granule cells. *Journal of Neuroscience Research*. Vol. 79(4), ss. 545-553.
- Forman, O.P., De Risio, L., Stewart, J., Mellersh, C.S. & Beltran, E. (2012). Genome-wide mRNA sequencing of a single canine cerebellar cortical degeneration case leads to the identification of a disease associated *SPTBN2* mutation. *BMC Genetics*. Vol. 13(19), ss. 55.
- Gandini, G., Botteron, C., Brini, E., Fatzer, R., Diana, A. & Jaggy, A. (2005). Cerebellar cortical degeneration in three English bulldogs: clinical and neuropathological findings. *Journal of Small Animal Practice*. Vol. 46(6), ss.291-294.
- Gao, Y., Perkins, E.M., Clarkson, Y.L., Tobia, S., Lyndon, A.R., Jackson, M. & Rothstein, J.D. (2011). β -III spectrin is critical for development of Purkinje cell dendritic tree and spine morphogenesis. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*. Vol. 31(46), ss. 16581-16590.

- Guerguelcheva, V., Azmanov, D.N., Angelicheva, D., Smith, K.R., Chamova, T., Florez, L., Bynevelt, M., Nguyen, T., Cherninkova, S., Bojinova, V., Kaprelyan, A., Angelova, L., Morar, B., Chandler, D., Kaneva, R., Bahlo, M., Tournev, I. & Kalaydjieva, L. (2012). Autosomal-Recessive Congenital Cerebellar Ataxia Is Caused by Mutations in Metabotropic Glutamate Receptor 1. *The American Journal of Human Genetics*. Vol. 91(3), ss. 553-564.
- Kyöstilä, K., Cizinauskas, S., Seppälä, E.H., Suhonen, E., Jeserevics, J., Sukura, A., Syrjä, P. & Lohi, H. (2012). A *SEL1L* Mutation Links a Canine Progressive Early-Onset Cerebellar Ataxia to the Endoplasmic Reticulum-Associated Protein Degradation (ERAD) Machinery. *PLoS Genetics*. Vol. 8(6), ss.e1002759.
- Lise, S., Clarkson, Y., Perkins, E., Kwasniewska, A., Sadighi Akha, E., Parolin Schnekenber, R., Suminaite, D., Hope, J., Baker, I., Gregory, L., Green, A., Allan, C., Lambie, S., Jayawant, S., Quaghebeur, G., Cader, M.Z., Hughes, S., Armstrong, R.J.E., Kanapin, A., Rimmer, A., Lunter, G., Mathieson, I., Cazier, J-B., Bucke, D., Taylor, J.C., Bentley, D., McVean, G., Donnelly, P., Knight, S.J.L., Jackson, M., Ragoussis, J., Németh, A.H. & Orr, H.T. (2012) Recessive Mutations in *SPTBN2* Implicate β -III Spectrin in Both Cognitive and Motor Development. *PLoS Genetics*. Vol. 8(12), ss. e1003074.
- Lorenz, M.D., Coates, J.R. & Kent, M. (2011). *Handbook of Veterinary Neurology*. 5th edition. St. Louis: Elsevier Saunders.
- Mancuso, M., Orsucci, D., Siciliano, G. & Bonuccelli, U. (2014). The genetics of ataxia: through the labyrinth of the Minotaur, looking for Ariadne's thread. *Journal of Neurology*. Vol. 261(2), ss. 528-541.
- Marsden, J. & Harris, C. (2011). Cerebellar ataxia: Pathophysiology and rehabilitation. *Clinical Rehabilitation*. Vol. 25(3), ss. 195-216.
- Rossmeis, J.H. (2010). Vestibular disease in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. Vol. 40(1), ss.81-100.
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O. & Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. 2nd edition. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- The Kennel Club. (April 2015). *Breed Specific DNA Tests*.
<http://www.thekennelclub.org.uk/media/14688/dnatestsworldwide.pdf> [2014-05-02]
- Tipold, A., Fatzer, R., Jaggy, A., Vandeveld, P., Tipold, M. & Moore, M. (2000). Presumed immune-mediated cerebellar granulo-prival degeneration in the Coton de Tuléar breed. *Journal of Neuroimmunology*. Vol. 110(1-2), ss. 130-133.
- Urkasemsin, G. & Olby, N.J. (2014). Canine Hereditary Ataxia. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. Vol. 44(6), ss. 1075-1089.
- van der Merwe, L.L. & Lane, E. (2001). Diagnosis of cerebellar cortical degeneration in a Scottish terrier using magnetic resonance imaging. *Journal of Small Animal Practice*. Vol. 42(8), ss. 409-412.
- Wilbe, M. (2013). *Discovery of a Novel Pathway for an SLE-related Disease Complex in the Canine Breed Nova Scotia Duck Tolling Retriever*. Diss. Uppsala: Sveriges Lantbruksuniversitet.

Zeng, R., Farias, F.H.G., Johnson, G.S., McKay, S.D., Schnabel, R.D., Decker, J.E., Taylor, J.F., Mann, C.S., Katz, M.L., Johnson, G.C., Coates, J.R. & O'Brien, D.P. (2011). A Truncated Retrotransposon Disrupts the *GRM1* Coding Sequence in Coton de Tulear Dogs with Bandera's Neonatal Ataxia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. Vol. 25(2), ss.267-272.