Folie 1

Zwischenbericht zum Forschungsprojekt Sebadenitis (SA)

PD Dr. Ina Pfeiffer
Institute of Biology
University of Kassel

Folie 2

Sebadenitis (SA) beim Akita

...Changing Our World Through
Canine Health Research
-A New Perspective

Folie 3

Hintergrundinformationen zu SA

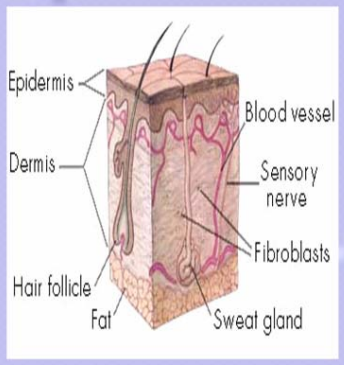
Zur Äthiologie der Krankheit:

- Rüden und Hündinnen sind betroffen
- Erste Anzeichen im Alter von 2 Jahren
- Fellfarbe nicht beeinflussend
- Unterschiedliche Erscheinungsformen der SA:
  1. Schneller Krankheitsverlauf
  2. Langsamer Krankheitsverlauf
- Stress verstärkt die Symtome: z. B. Trächtigkeit
- Zur Zeit kein Medikament verfügbar, welches zerstörte Talgdrüsen re-vitalisiert

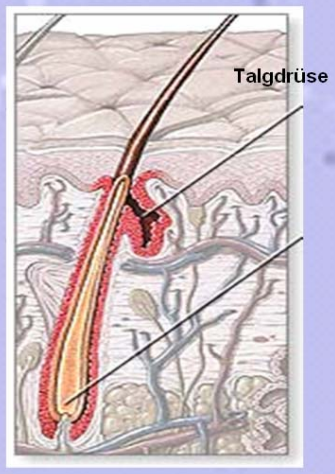
Folie 4

Hintergrundinformationen zu SA

Die Haut:

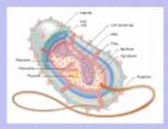


Die Talgdrüse:

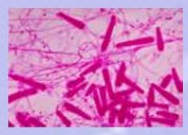


Ursachen:

~~Virus~~



~~Bakterien~~



~~Pilze~~

Folie 5

Hintergrundinformationen zu SA

Histopathologie

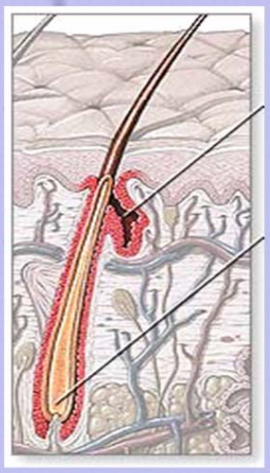
1. Situation in gesunden Akitas:
   - Sebozyten in der Talgdrüse

2. Situation in SA-positiven Akitas:
   - Massive Infiltration von antigen-präsentierenden Zellen (APC) in die Talgdrüsen
   - Makrophagen
   - T-Lymphocyten
   - Dendritische Zellen

Folie 6

Hintergrundinformationen zu SA

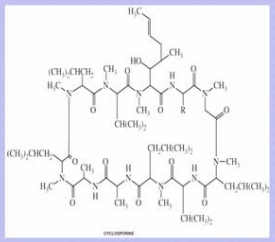
Histopathologie



- Sebozyten werden von APC-Zellen attackiert
- Keine Viren; keine Bakterien oder Pilzinfektion
- Der Erkennungsprozess zwischen „Eigen und „Fremd" funktioniert nicht mehr.
- “Autoimmunerkrankung”

Folie 7

Hintergrundinformationen zu SA



Hinweise:

- Immunsuppressive Medikation, u.a. Cyclosporin (Glucocorticoid), unterbindet die Autoimmunreaktion
- Sobald die Medizin abgesetzt wird, nimmt die Krankheit ihren Lauf

Frage:

- Welcher Kontrollmechanismus funktioniert im Körper des Hundes nicht mehr?

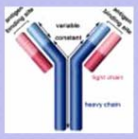
Folie 8

Hintergrundinformationen zu SA

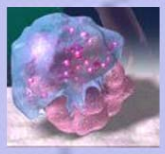
Wichtige Komponenten des Immunsystems sind im Blut lokalisiert

Das Immunsystem besteht aus vielen Komponenten:

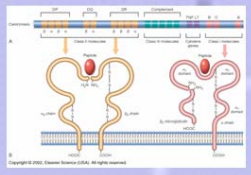
Antikörper



Zelluläres Immunsystem



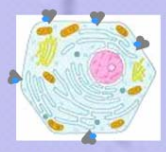
MHC-System



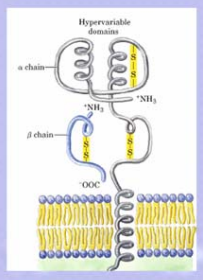
Die Schlüsselrolle in der Autoimmunerkennung: MHC

Folie 9

MHC: Verantwortlich für Autoimmun-Defekte

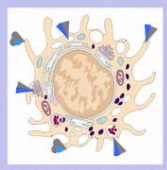


Körperzelle

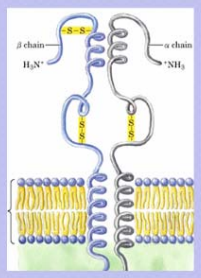


MHC- Klasse-I Moleküle

- Proteine befinden sich auf der Oberfläche aller Körperzellen
- Antigenpräsentation für T-Lymphozyten



Makrophage



MHC- Klasse-II Moleküle

- Proteine befinden sich nur auf APC-Zellen

Folie 10

Hintergrundinformationen zu SA

Die Immunreaktion und
die Autoimmunkontrolle kann als
„Schlüssel-Schloss-Prinzip“
verstanden werden

Im Körper selbst reagieren verschieden Moleküle miteinander

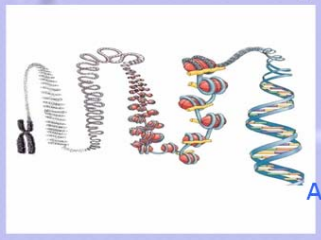
Veränderungen innerhalb der Moleküle führen
zu Erkennungsproblemen

Folie 11

Kandidaten - Gen - Ansatz

- Loci mit einer hohen *a priori* Wahrscheinlichkeit, die ursächlich mit dem Defekt im Zusammenhang stehen
- Das Hundegenom wurde 2003 in der GenBank (NCBI) vorgestellt:

Tasha



2.8×10^9 bp
(2.8 billion basepairs)

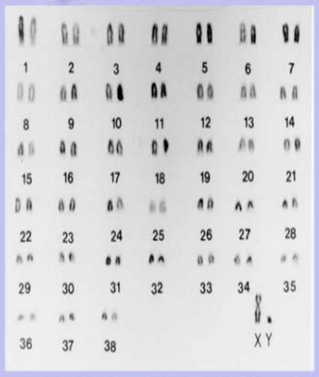
Primerdesign: Gen DLA-DRA1

A A C C A C A G A A T T A
A C T

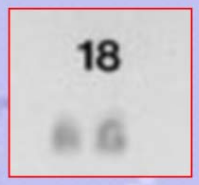
TTTGTTTATTTTGCTATTTTTATTTGATTATATGTATGAGGTGTTTTTTCTTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTATTAAGAGC
TTTACTTGTTTACCTGACCCTTTGACAAGAGCTCTTCCCTTAGCAACAGATGTATCATCTCAAAAGTTTTTCTGATTGGCTTCAGCTCAACTTATTTAAATTTCAATCAGTCAAACTCTAT
C
ATACCATACATTCTCTCTTTTTTTTTAAATCCGTGTCAGTTATACCCTACTCTTTAGCTCTACTCGACCTCCCAACAAATCACAGAAGAAAATGACCATAAGTGGAGTCCCAGTGCTAGG
ATTTTTCATCATGGCTTTCCTGATGGGTCCTCAGGAATCATGGGCTGTCAAAGGTAAGTGCTGAGAGAAACAAAACTTGGGATAGAAATTCTGAGAGCATTGGAGAGATAAATTGTAA
ATATTTGCAAGACTGTCTTTGAAGTGAAGGAAAAGTGTGGCAGGCATCGTGTGGTCTAAATCTGAAAGTATTAAAAAATTGTAGTTTGGAGGAGTTCTGATCTTATAAATTGAAGTCAG
T
CACATTTAGTTGAGAGGAACAAAAAATGGTATGGATTAGTACCATTGACTTTGAGATAAGGCTGACTTGAAGTGAAAATCTTTTCTGAGAGGTATTAACAAGCTATCCTCTGGGCTTTA
A
TTTCTTTTTCTGGAAAATTAGTAGATTTTGAAATCTCACATCATTTTGTGGGG

Folie 12

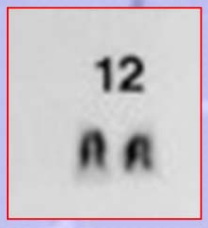
MHC-Komplex Kandidaten-Gen-Screen



MHC Klasse I Gene	Chromosom
DLA-88	12
DLA-79	18
DLA-12	12
DLA64	12



MHC Klasse II Gene	Chromosom
DLA-DRA1	12
DLA-DRB1	12
DLA-DQA1	12
DLA-DQB1	12



Folie 13

Material und Methoden

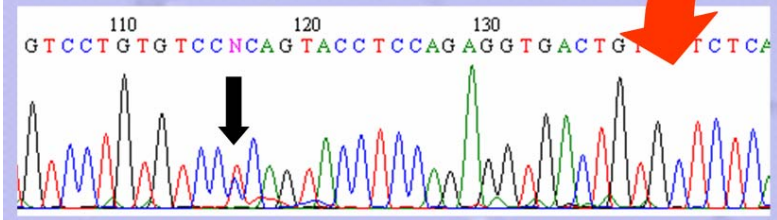
Optimierung der Reaktion:

- Jedes Primerpaar wurde optimiert.
- Für die Experimente wurden nur die Reaktionen weiter verwendet, die eine deutliche schwarze Bande innerhalb der erwarteten Größe vorwiesen.

Folie 14

MHC-Komplex Kandidaten-Gen-Screen

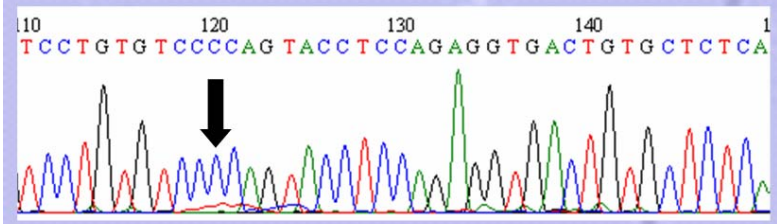
ABIprism 3100 genetic Analyzer



Heterozygot

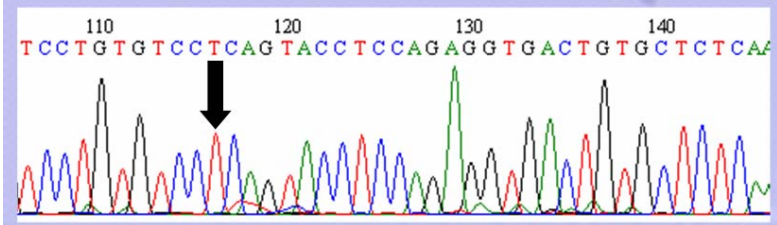
C/T

Sequenzierung



Homozygot

C/C



Homozygot

T/T

Folie 15

MHC-Komplex Kandidaten-Gen-Screen

MHC Klasse I Gene	Status	PCR-Produkte	Primer
DLA 88	Complete	1 (850bp)	New
DLA 79	Complete	7 (4833bp)	New
DLA 12	Complete	6 (4663bp)	New
DLA 64	Complete	4 (3178bp)	New

MHCKlasse II Gene	Status	PCR-Produkte	Primer
DLA-DRA1	Complete	4 (1762bp)	New
DLA-DRB1	Complete	1 (545bp)	
DLA-DQA1	Complete	1(581bp)	
DLA-DQB1	Complete	1(1018bp)	

29 Gesunde Akitas
13 Kranke Akitas

732.060bp

Folie 16

MHC-Komplex Kandidaten-Gen-Screen

Ergebnisse

- **Es konnte eine Assoziation zwischen bestimmten MHC-Gen-Haplotypen und einer SA Prädisposition für Akitas festgestellt werden.**
  Dieser Trend ist sehr vielversprechend für die SA Diagnostik.
  (Publikation ist in Vorbereitung)

- **Die erste erfolgreiche wissenschaftliche Untersuchung von caninen MHC1- Klasse-Kandidaten- Genen: Damit sind Werkzeuge verfügbar, um bei anderen relevanten Autoimmunerkrankungen, wie VKH, entsprechende Analysen durchzuführen.**
  (Publikation ist in Vorbereitung)

- **Mehrere canine MHC I Gene weisen eine unerwartet hohe genetische Variabilität auf.**

- **Eine hohe Homozygotie bestimmter MHC-Gene konnte innerhalb der untersuchten Akitas ermittelt werden.**

Folie 17

Ausblick

Zukünftige Experimente:

- Screening von SA Akitas und gesunden Akitas, um die "Risk Ratio" eines bestimmten MHC Kandidatengens für SA zu prüfen.
- Ziel: Genetischer Nachweis um Hunde mit einer hohen SA „Risk Ratio" zu identifizieren.
- Vertiefende Studien zur weiteren Aufklärung der SA
- Es zeichnet sich ab, dass es sich bei SA höchstwahrscheinlich um eine multifaktoriell gesteuerte Erkrankung handelt.