

SZENT ISTVÁN EGYETEM GÖDÖLLŐ
MEZŐGAZDASÁG- ÉS KÖRNYEZETTUDOMÁNYI KAR



Állatnemesítési, Sertés-, Baromfi- és Hobbiaállat-tenyésztési Tanszék

Feline hipertrófiás kardiomiopátia a magyarországi Maine Coon állományban

Tudományos diákköri dolgozat

Készítette:

Rzepiel Andrea

MKK III. évf.

Belső konzulens: **Dr. Horvainé Dr. Szabó Mária**
egyetemi docens, tanszékvezető

Külső konzulens: **Dr. Nagy Zsolt**
ügyvezető, NAGY GÉN Diagnosztika és Kutatási Kft.

Gödöllő
2011

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	4
1.1. Célkitűzés	5
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	6
2.1 A mane coon fajta	6
2.1.1. A fajta kialakulásának története	6
2.1.2. A fajta jellemzése	7
2.2. Feline hipertrófiás kardiomiopatia	8
2.2.1. A betegség általános leírása	8
2.2.2. A betegség genetikai háttere	10
2.2.3. Francia populáció felmérése	10
2.2.4. Amerikai populáció felmérése	11
2.2.5. Dán populáció felmérése	13
2.2.6. További állományok felmérése	14
2.3. Biobankról általában	19
2.3.1. Biobank, mint genetikai adattár	20
2.3.2. Macska biobank	21
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	22
3.1. A vizsgálat anyaga	22
3.2. A vizsgálat módszere	23
3.2.1. Szájnyálkahártya-mintavétel	23
3.2.2. DNS tisztítás	23
3.2.3. DNS mennyiségi és minőségi ellenőrzése	24
3.2.4. Primer tervezés	24
3.2.5. Szekvenálás	24
3.2.6. Statisztikai elemzés	25
4. EREDMÉNYEK ISMERTETÉSE ÉS ÉRTÉKELÉSE	26
4.1. Biobank előkészítése és létrehozása	26
4.1.1. Tájékoztatás és a nyilatkozatok kitöltése	26
4.1.2. Maine coon biobank felállítása	27
4.1.3. A Maine coon biobank statisztikai jellemzői	27
4.2. A feline hipertrofiás kardiomiopátia szűrése	31
4.2.1. A31P-mutáció előfordulásának felmérése	31
4.2.2. A74T-mutáció előfordulásának felmérése	32
4.2.3. A31P és A74T mutáció előfordulása	32

5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK	34
6. ÖSSZEFOGLALÁS	36
7. MELLÉKLETEK	37
7.1. Irodalomjegyzék	37
7.2. Függelék	40
7.3. Nyilatkozat	47
7.4. Köszönetnyilvánítás	48

1. BEVEZETÉS



1-1. kép **Maine coon kölyök**
forrás: <http://allatmania.hu/angelis-coons-cherry-cherry->

Az angolul igen találóan "*gentle giant*"-nak nevezett maine coon macskafajta (1-1. kép) létszáma Magyarországon 5-6000-re tehető, így hazánkban az egyik legnagyobb egyedszámmal jelenlévő fajta a brit rövidszőrű fajta mellett. Bár nem tartozik a legdrágább macskafajták közé egy-egy tenyészállat beszerzési ára így is meghaladja a 240000 Ft-ot.¹

Nemcsak hazánkban, de a külföldi országokban is nagy népszerűségnek örvendő fajta. Így érthető, hogy külföldön több kutatás is foglalkozott betegségeivel, öröklődő

rendellenességeivel. Hozzávetőleg 33 gén 50 olyan mutációt tartalmaz, amely egészségügyi problémákat okozhat a házimacska fajban [LYONS, 2010]. Ilyen öröklődő betegségek például a *progresszív retina atrophia* (PRA), *polycisztás vese*

betegség (PKD), *haemophilia*, és a *feline hipertrófiás kardiomiopátia* (fHCM) is. A genetikai mutációk vizsgálatára legegyszerűbben szájnyalakahártya mintából izolált DNS-t használnak. A genetikai vizsgálatok segítségével az egyed genotípusát is megismerhetjük adott mutációra nézve, ami nagyban segítheti a tenyésztői munkát.

Ennek jegyében terveztük meg a kutatást a tenyésztők, illetve tulajdonosok bevonásával, melyhez hasonló hazánkban eddig nem történt. Egy kérdőíves felmérés segítségével kiderült, hogy a feline hipertrófiás kardiomiopatiát az egyik leggyakoribb problémának tartják a maine coon fajtát tartók és tenyésztők, egyéb szaporodásbiológiai és immunrendszert érintő megbetegedések mellett.

Tenyésztési szempontból a hordozó egyedek megítélése, és ezen tenyészegedek további tenyésztésbe tartása meggondolandó. A tenyésztői döntések háttérében gyakorta más megfontolások is érvényesülnek, ugyanakkor a genetikai vizsgálatok eredményeinek ismerete alapfeltétele a tudatos tenyésztői munkának. A kutatásban résztvevők csak remélik, hogy

¹ Ivartalanított példányok már átlagosan 110000 Ft-os áron beszerezhetők.

munkájukkal hozzájárulhatnak az okszerű tenyésztési cél, egy egészséges, hordozó egyedektől mentes állomány kialakításához.

1.1. CÉLKITŰZÉS

A kísérletek megtervezésénél célul tűztük ki a hazai maine coon állomány DNS biobankjának a létrehozását, mellyel a későbbi genetikai kutatások megkönnyítését és felgyorsítását terveztük.

A dolgozatban egyrészt szeretném a biobank eddigi állományának alapstatisztikai jellemzőit ismertetni, másrészt a DNS biobank alapján a maine coon fajtát érintő MYBPC3 génmutáció populáció szintű előfordulását felmérni. Mivel a hazai populációról kevés szakkikk jelent meg, a populációs szintű felmérés alapvető fontosságú lehet a magyarországi maine coon állomány egészségének megőrzésében.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A MANE COON FAJTA

2.1.1. A fajta kialakulásának története

A maine coon nemcsak arról nevezetes, hogy Amerika legrégebbi és legnagyobb létszámú fajtája, hanem a legnagyobb termettel rendelkező is.

Már Maine állam megalakulásakor is megtalálható volt ezen a területen, és nemegyszer össze is tévesztették az őshonos mosómedvével, mert külsejük, cirmos mintázatuk, lompos farkuk és vadászmódszereik is hasonlítanak.



2-1. kép. **A maine coon cirmos (tabby) színváltozata**
forrás: http://macskak_dormi.mindenkilajka.hu

Nem tudunk sokat a fajta eredetéről, viszont sok legenda alakult ki róla. Az egyik elképzelés szerint egy vadmacska és egy mosómedve (angolul: Zaccoon) keresztezésével alakult ki mindegy 300 évvel ezelőtt. Ez a kialakulás természetesen biológiailag nem lehetséges. Egy másik elképzelés szerint a helybeli elvadult házimacskák, és az európai telepesek által Amerikába bevitt angóramacskák keresztezéséből származik. Az angóramacskák pedig úgy kerültek Amerikába, hogy az oda hajózó tengerészek vitték magukkal, hogy a macskák a gabona miatt a hajón elszaporodó patkányokat kiirtsák. Megint másik elképzelés szerint a fajta a vikingekkel érkező norvég erdei macskáktól származik.

A New York-i macskakiállításon már 1860-ban bemutatták a fajtát, 1861-ben törzskönyvezték és 1895-ben a Madison Square Gardenben rendezett kiállításon nagydíjat (Amerikai Grand Prix) kapott. Népszerűsége azonban a perzsa macskák behozatala után csökkent az Egyesült Államokban, és csak 1950 tájákn kezdett ismét növekedni. 1976-ban a fajta hivatalos elismerést nyert az Amerikai Egyesült Államokban majd a világ minden táján is [TAYLOR, 1992].

Európai térhódításához is kapcsolódnak történetek. Miszerint úgy került be a fajta Európába, hogy La Fayette márki, mikor visszatért az amerikai függetlenségi háborúból, hozott magával egy maine coon-párt, és ezeket Marie Antoinette királynőnek ajándékozta. Amikor a királynőnek

a forradalom alatt menekülnie kellett, akkor úgy intézkedett, hogy valamennyi állatot engedjék szabadon a kastélyhoz tartozó erdőben. Az elkényeztetett, elpuhult macskák közül a legenda szerint pedig csak a maine coonok maradtak élben [SZINÁK, 1989].

2.1.2. A fajta jellemzése

E macskafajta természetére a kedvesség, önállóság és szabadságszeretet, külsejére pedig egyértelműen a szépség jellemző.



2-2. kép. **Maine coon vörös cirmos
színváltozata**

forrás: [HTTP://WWW.MAINECOONS.EOLDAL.
HU](http://www.mainecons.eoldal.hu)

Bundája fényes, selymes és vízálló, – nem hasonlít egyetlen más fajtához sem – hosszabb a hasán, és a hátsó lábakon, hogy védje a nedvességtől, és a hótól, rövidebb a háton és a nyakon, hogy ne gubancolja össze az aljnövényzet. A bunda selymes, esése egyenletes, kezelést alig igényel. Hosszú, bozontos farka van, melyet maga köré tud csavarni, hossza a testhosszal azonos, tövénél széles, a vége tompa és itt a szőr legyezőszerű.

A *fülek* nagyok, egymástól távol esnek, meglehetősen magasan tűzöttek, szőrrel gazdagon borítottak. A *mancs* nagy, kerek, pamacsos, a *talppárna* színe megegyezik a szőr színével. Az *orr* rövid, ék alakú, az orrtükör rózsaszín. A *szem* nagy, kissé ferdén metszett, távol ülő.

A kandúrok testtömege általában 8-9 kg, de elérhetik akár a 10-12 kg-ot is, a nőstényeké átlagosan 6-8 kg. Későnérő fajta, teljes méretét 3-5 éves korára éri el, játékos természete viszont egész életében jellemzi. Szelíd, kedves „óriás” angyali természettel megáldva.

Minden színben és színekombinációban tenyésztik, kivéve a csokoládébarnát, lilát és a sziámi jellegű mintázatot [BASS, 1983; BEANE, 1979; EMINHIZER, 1970; EMINHIZER, 1967; GEBHARDT, 1991; HANSEN, 1976; HOLBY, 1988; HORNIDGE, 1991; JACOBBERGER, 1995; MAGGITT, 1987; MALESKY, 1987; MARTINKE, 1969; RICH, 1956; STANISLOW, 1985; YOUNG ÉS MTSAI, 1991].

A FIFe² által megalkotott besorolási rendszer az EMS³ alapján a fajta EMS kódja: MCO
[[HTTP://WWW.MACSKAEGYESULET.HU/SZABALYZATOK/EMS-KODOK#FAJTAKOD](http://www.macskaegyesulet.hu/szabalyzatok/ems-kodok#fajtakod)].

A Macskamánia Magyar Macska Egyesület adatai alapján a hazai állomány nagysága 5-6000 egyedre tehető.

2.2. FELINE HIPERTRÓFIÁS KARDIOMIOPÁTIA

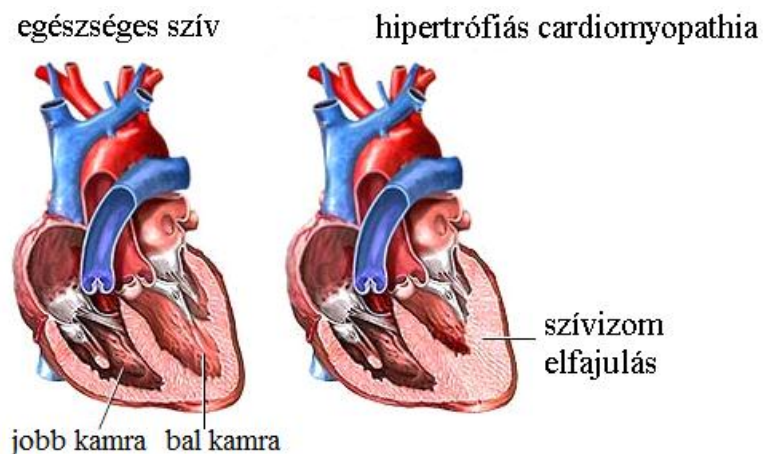
KITTLESON és munkatársai már 1999-ben *feline hipertrófiás kardiomiopátiát*⁴ írtak le egy amerikai maine coon macska családban.

2.2.1. A betegség általános leírása

A más néven szívizom elfajulásként is emlegetett betegség macskában is előfordul csakúgy mint emberben, kutyában, aranyhőrcsögben.

Az emberekben a betegség kialakulhat kezeletlen magas vérnyomás következményeként, illetve genetikai mutációk hatására is. Humán vonatkozásban több mint 200 féle mutáció okozhat szívizom elfajulást.

A házimacska fajban előforduló *feline hipertrófiás kardiomiopátia* (fHCM) ugyancsak a szívkamra megvastagodását jelenti, a különbség azonban az, hogy míg emberben a szív mérete is megnő addig a házimacska fajban a szív súlya változik csak oly módon, hogy a kamra fala befelé vastagszik, így a szív lumene csökken. Ezt a megváltozás szemlélteti a 2-1. ábra.



2-1. ábra Hipertrófiás kardiomiopátia

(forrás: WARE <http://maxshouse.com> nyomán)

² FIFe = Federation Internationale Feline

³ EMS =Easy Mind System

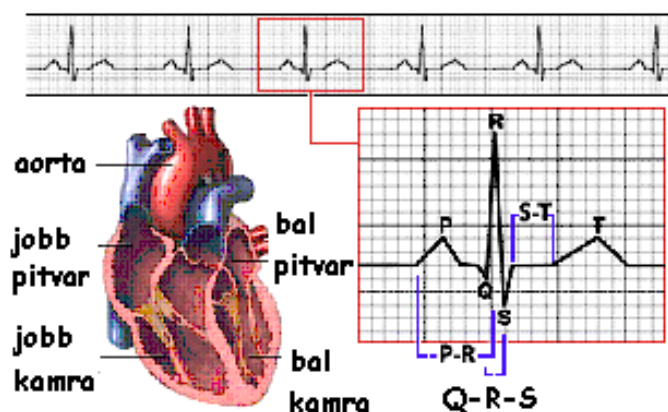
⁴ *feline hipertrófiás kardiomiopátia* rövidítése. fHCM

A betegség bármely életkorban felléphet. Korai szakaszában a szív megduzzad, és gyulladttá válik. Bevérzések keletkeznek a szívizomban. Ezek a hirtelen változások rendkívül igénybe veszik a szívet, és akut szívszélhűdést vagy hirtelen szívhalált okozhatnak.

A középső szakaszban a szív megnagyobbodott állapotban van, a szívben egyes helyeken az izmot hegszövet, vagy más rugalmas szövet váltja fel. Így a szív pumpakénti működése kevésbé hatékonyra válik, és ezt azzal igyekszik kiegyensúlyozni, hogy még tovább növekszik. Ez az állapot 6-7 éves macskákban a leggyakoribb.

A végső szakaszban a szívizom-elfajulás fokozódik, baloldali szívszélhűdés lép fel, majd ezt követi a jobboldali szívszélhűdés. A szívizom megvastagodása a szívkamrák elégtelen feltöltődéséhez, a szív pumpaként való működésének zavarához és szabálytalan szívritmus kialakulásához vezet. Ezek eredményeképp nehézlégzés lép fel, a tüdőben és hasüregben folyadék halmozódik fel, vérrögök keletkeznek. Könnyebb esetben levertség és étvágytalanság jellemző. A köhögés, mely kutyában például szívelégtelenségre utal, macskába csak ritkán jellemző tünet.

A szívizombetegség kialakulása gyors, 2-3 hónap alatt történik. A macska nehezen lélegzik még pihenő helyzetben is. Ül, a nyakát és fejét előre nyújtja, könyökét kifelé fordítja és így próbál levegőt venni. A lábfeje és fülei hidegek, jelezve a keringés elégtelen voltát. A pulzus gyors, gyengén tapintható, üteme szabálytalan, vagy túl lassú. Mindemellett a macska nem eszik, gyorsan csökken a súlya, legyengül.



2-2. ábra Elektrokardiogram felvétel (EKG)
forrás: <http://www.revolutionhealth.com/articles/ekg-components-and-intervals/zm2308>

Kezelése összetett, az állapot előrehaladtától függ. Laboratóriumi, EKG és röntgen vizsgálatok elvégzése ajánlott. A betegség diagnosztizálásakor rendellenes szisztolé hang figyelhető meg, és az EKG vizsgálat során mély Q, illetve negatív T-hullámok jellemzőek (2-2. ábra).⁵

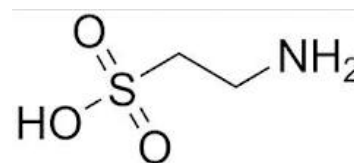
⁵

P hullám: pitvar összehúzódása, **Q-R-S komplex:** kamrák összehúzódása, **T hullám:** ellazítási időszak

A beteg macskát alacsony só-, magnézium- és káliumtartalmú étrenden kell tartani, a keringési zavar miatt felgyülemlett folyadékot pedig vízhajtókkal kell eltávolítani. Javasolt a *taurin* fokozott bevitele és a mozgás minimálisra csökkentése. A *diltizamin* és a *propananol* két olyan gyógyszer, amelyek csökkentik a szívverés gyakoriságát és a nyomást a szívkamrákban, így azok jobb feltöltődést tesznek lehetővé.

Egy vizsgálat szerint a fHCM-ben szenvedő macskák túlélési átlagideje 732 nap. Azok a macskák, amelyeknek szíve 200-nál kevesebbet ver hosszabb ideig maradnak életben mint azok, amelyeknek 200-nál többet ver percenként [HTTP://WWW.FAMKAT.HU/ORVOS/HEART.HTM].

A macskákban a betegséget okozhatja taurinhiány (2-3. ábra), illetve genetikai háttér is lehet. Ugyanakkor a mai korszerű macskatápok etetése esetén kizárható, hogy a 2-3. ábra. A **taurin szerkezeti képlete** betegség taurinhiány miatt alakuljon ki.



forrás: Wikipedia.org

2.1.2. A betegség genetikai háttere

Már 1999-ben a fHCM-et írtak le egy amerikai maine coon macska családnál, autoszomális domináns öröklődésűnek, teljes penetranciával (KITTLESON ÉS MTSAL, 1999).

Maine coon fajtában 2005-ben írták le először a HCM-ért felelős genetikai mutációt, mely az MYBPC 3-myozinkötő C fehérjét kódoló MYBPC3 gén mutációja [MEURS ÉS MTSAL, 2005]. Két pontmutációról (SNP-ről) tudunk ebben a fajtában: A31P és A74T mutációkról. Az első esetben (A31P) a pontmutációnál citozin van guanin helyett, míg a második esetben (A74T) adenin.

A miozinkötő protein C egy miozinhoz kapcsolódó fehérje (MYBPC3 más néven cMyBPC), mely a harántcsíkolt izom A kötegének C-régiójában (cross-bridge-bearing zone) található. A MYBPC3 egy szívben található fehérje izoform, mely kizárólag a szívizomban expresszálódik. Az izoform fehérje a szívkontrakció modulálás szabályozásában játszik szerepet. A MYBPC3 foszforilációját a cAMP függő proteinkináz (PKA) végzi, mely az adrenerg stimuláció mellett kapcsolódik a szívkontrakció modulálásában [HTTP://EN.WIKIPEDIA.ORG/WIKI/MYOSIN_BINDING_PROTEIN_C,_CARDIAC,HTTP://WWW.GENECARDS.ORG/CGI-BIN/CARDDISP.PL?GENE= MYBPC3]

2.1.3. Francia populáció felmérése

Egy Franciaországban [CET ÉS MTSAL, 2009] készült kutatás 96 maine coon fajtájú macskát vizsgált. A kutatás az A31P mutációra nézve heterozigóta egyedekre irányult. Vizsgálták, hogy

milyen összefüggés van az A31P mutációra heterozigóta egyed és a bal kamrai hipertrófia⁶, továbbá a *major myocardialis dysfunctio* között. A DNS-t szájnnyálkahártya mintából nyerték ki, majd PCR technika segítségével végezték el a vizsgálatokat.

A kutatás eredményeként megállapították, hogy a vizsgálati állományból 52 macska negatív a fenti mutációra (Homo WT), 38 heterozigóta, illetve 6 egyed homozigóta (Homo M) az A31P mutációra nézve. A heterozigóta egyedek 11%-ánál van jelen az LVH, és a Homo WT csoportból csak 2%-nál detektálható az LVH.

A 96 macskából 31 kandúr volt, ebből 2 ivartalanított. A nőtények a vizsgált populáció 67,7%-át tették ki, ebből 5 ivartalanított és egy nőtény vemhes volt a mintavételkor. A vizsgált állomány átlag életkora $2,6 \pm 2,1$ év volt, az átlag testtömegük $5,1 \pm 1,4$ kg.

Az fHCM-et csak 10 macskánál (7 kandúr, 3 nőtény) diagnosztizáltak a vizsgált 96 macskából. Ebbe az fHCM-es csoportba (átlag életkoruk $2,6 \pm 1,5$ év, átlag testtömegük $6,4 \pm 1,4$ kg) tartozó 10 macska közül 2 kandúr a Homo WT csoportba, 4 macska (2 kandúr, 2 nőtény) a Homo M csoportba és 4 macska (3 kandúr és 1 nőtény) a Hetero csoportba tartozott. Három macskánál (2 a Homo M, és 1 a Hetero csoportból) jelentkeztek a betegség tünetei a vizsgálat ideje alatt. A három tüneteket mutató macska közül egy a vizsgálat után 26 hónappal is élt még, míg a másik kettő közül az egyik akut szívelégtelenségbe, a másik hirtelen szívhalálba elhullott 15, illetve 17 hónappal később [CET ÉS MTSAL, 2009].

Összefoglalva a kutatás eredményeit megállapítható, hogy a betegségre heterozigóta macskák is élhetnek fHCM tünetmentesen hosszú éveken át, azaz a heterozigóta státuszából nem következik egyértelműen, hogy az egyednél kifejlődik a bal kamrai hipertrófia, és a *major myocardialis dysfunctio*.

2.1.4. Amerikai populáció felmérése

Egy az Egyesült Államokban végzett kutatás az fHCM és vérplazma NT-proBNP⁷ koncentrációjának kapcsolatát vizsgálta [SINGH ÉS MTSAL, 2010].

35 maine coon fajtájú macska vett részt a kutatásban (15 nőtény és 20 kandúr), melyek átlag életkora 8 év (7-15 év közt) volt. A kutatás során 4 csoportot különítettek el echocardiograph (ECHO) vizsgálatok alapján. Ezek: normál (1), kétséges (2), mérsékelten beteg (3), illetve súlyos

⁶ továbbiakban használt rövidítés: LVH

⁷ Az NT-proBNP a szív egyik prohormonja, melynek koncentrációja a vérben megnövekszik a bal kamra túlterhelésekor.

fHCM-es (4) csoport. A normál csoportba (n=8) 4 heterozigóta és 4 vad típus volt az A31P mutációra nézve. A kétséges csoportba tartozó 11 egyedből 4 heterozigóta és 7 vad típus került. A mérsékelt csoportba 3 heterozigóta és 4 vad típusú egyedet soroltak, tehát összesen 7, míg a súlyos fHCM-es csoportot alkotó 9 macskából 4 heterozigóta és 5 vad típusú volt az A31P mutációra nézve. A kutatás ideje alatt a betegség súlyossága nem változott egyik egyednél sem.

Az ECHO vizsgálat alapján normál csoportba tartozó összes macska vérplazma NT-proBNP koncentrációja 0 pmol/l volt (2-1. táblázat). Egy kivétellel a kétséges csoportba tartozó egyedek vérplazma NT-proBNP koncentrációja is 0 pmol/l volt. A mérsékelt fHCM csoportban két egyednél tért el a 0 pmol/l-től a prohormon vérplazma koncentrációja, az egyik esetben 38 pmol/l, míg a másik esetben 48 pmol/l volt a mért koncentráció. A súlyos fHCM-es macskáknál a vizsgált prohormon szint 0-482 pmol/l -ig terjedt, az átlagérték 45 pmol/l⁸. A súlyos fHCM-es csoport NT-proBNP vérplazma koncentrációja szignifikánsan magasabb ($P < 0,0003$) mint a többi csoportba tartozó macskáké. Nem volt szignifikáns különbség az NT-proBNP koncentráció között a normál, kétséges és mérsékelt fHCM csoport között.

2-1. táblázat. A NT-proBNT konc. vizsgálat eredményei
(SINGH ET AL, 2010 nyomán)

Vizsgálati csoportok			
1. (n = 8)	2. (n = 11)	3. (n = 7)	4. (n = 9)
NT-proBNP konc. (pmol/l)			
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	19
0	0	0	5
0	0	38	282
0	0	48	345
0	0		434
	0		482
	0		
	32		

Az eredmények azt jelzik, hogy nincs szignifikáns kapcsolat a heterozigóta státusz (A31P mutációra nézve) és az fHCM súlyossága között, valamint az A31P mutáció és a plazma NT-proBNP koncentrációja között sem [SINGH ÉS MTSAL, 2010]. A kutatók arra a következtetésre jutottak, hogy az NT-proBNP vérplazma koncentrációjának vizsgálata nem jelent biztos módszert a feline hipertrófiás kardiomiopátia diagnosztizálásában.

⁸ A plazma NT-proBNP koncentrációjának normál határértéke: 100 pmol/l

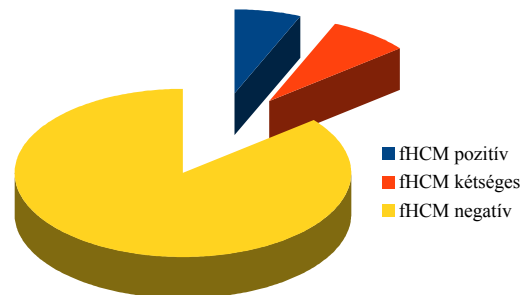
2.1.5. Dán populáció felmérése

332 maine coon macska vizsgálatát végezték el Dániában [GODIKSEN, 2011]. A kutatás adott fajta A31P mutációját vizsgálta, és az eredmény kapcsolatát az fHCM kialakulásával. A klinikai vizsgálatok során ECHO és ultrahang vizsgálatokat is végeztek.

A DNS vizsgálatokhoz teljes vért, vagy EDTA-val kezelt vért használtak. Ahol nem volt lehetőség vérből DNS-t izolálni (3%), ott szájnyalkahártya mintából végezték el a DNS kinyerést. A tisztított DNS-t PCR technikával vizsgálták tovább.

A 332 egyedből 118 kandúr volt, melyek átlag életkora 1,5 év, az átlagos testtömegük pedig 6 kg volt. A 214 nőstény átlagosan 2 éves volt és 4,4 kg. Három csoportot alakítottak ki: (1.) fHCM pozitív, (2.) negatív és (3.) kétséges.

Az fHCM pozitív csoportba 21 macska került, ebből 14 kandúr volt. Kétségesnek tekintettek 26 macskát (14 kandúr). Negatív csoportba került 285 egyed, melyből 90 volt kandúr (2-4. ábra).



2-4. ábra. A vizsgált 332 maine coon fenotípusos eloszlása

Nem volt szignifikáns különbség a három csoport életkora között ($P > 0,05$). A testsúly tekintetében az fHCM pozitív macskák testtömege

szignifikánsan nagyobb volt a negatív csoport egyedei testtömegénél ($P < 0,05$), de nem volt statisztikailag igazolható különbség a kétséges és az fHCM-es macskák testsúlya közt ($P > 0,05$).

A vizsgálati állomány ($n=332$) genotípus vizsgálatának eredményeképpen megállapították, hogy 18 macska homozigóta az A31P mutációra nézve, 89 egyed heterozigóta és 225 maine coon a vad típusba tartozott.

A kutatás végső következtetése, hogy az A31P mutáció és a feline hipertrófiás kardiomiopátia kapcsolatára alacsony penetrancia jellemző fiatal, heterozigóta egyedeknél [GODIKSEN, 2011].

2.1.6. További állományok felmérése

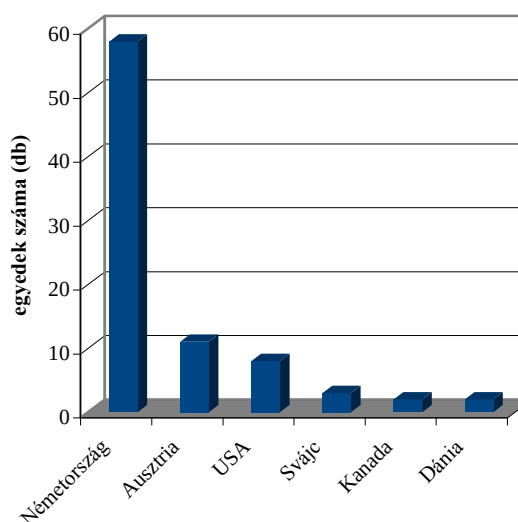
Egy 2010-ben publikált kutatásban KITTLESON és munkatársai a maine coon mellett más fajtájú macskákat is bevontak az A31P és A74T mutációk vizsgálatába, ahol a két pontmutáció és a fenotípus kapcsolatát vizsgálták Németországban.

Az A31P pontmutáció, illetve egy másik SNP (A74T) a miozinkötő C3 génen (MYBPC3) okozhat feline hipertrófiás kardiomiopátiát a maine coonoknál. Egyes kutatások szerint az A31P mutáció a maine coonok 34%-át érinti világszerte [FRIES R. és MTSAL, 2008].

WESS és munkatársai vizsgálati állományában 83 maine coon fajtájú és 68 egyéb fajtájú macska (norvég erdei macska, perzsa macska, házi rövidszőrű) vett részt. A kutatás 2 évig folyt (2005. augusztusától - 2007. augusztusáig).

A maine coon egyedek több országból származtak. Az egyes országok szerinti megoszlást a 2-5. ábra szemlélteti.

A kutatásban vizsgált macskák szülőállományának származását is vizsgálták. Eszerint a szülőállomány 48,2% (n=80) származott Németországból, 21,1% (n=35) az Egyesült Államokból, 8,4% (n=14) Ausztriából, 6% (n=20) Kanadából, 3,6%



2-5. ábra. A vizsgált macskák eloszlása származási hely szerint

(n=6) Olaszországból, 3,0% (n=5) Svédországból, 3,0% (n=5) Svájcban, 3 egyed az Egyesült Királyságból, 2 Lengyelországból, 2 Franciaországból, 2 Hollandiából és 1 egyed Spanyolországból.

A vizsgálatba vont egyedeket egyrészt fajta szerint két csoportra osztották úm. maine coon és az egyéb fajták csoportja, másrészt kialakítottak egy egészséges, illetve fHCM-es csoportot is az ECHO fenotípus vizsgálat alapján. A fenotípust vizsgálták ultrahang segítségével is.

A DNS-t vérből izolálták QIAamp DNA Mini Kit-tel. Az A31P és A74T mutáció vizsgálatát PCR technikával végezték el.

A31P mutációt találtak a maine coonok 22%-nál (n=18), de a vizsgálati állomány egyéb fajtáinál egyáltalán nem volt jelen a fenti mutáció. A pozitív eredménnyel rendelkező maine coonok ECHO vizsgálata során 83% (n=15) egészségesnek bizonyult. A pozitív egyedek közül 2 volt homozigóta (C/C) az A31P mutációra nézve. Az ECHO vizsgálattal fenotípusosan fHCM-esnek diagnosztizált macskák közül csak 3-nál volt jelen az A31P egy pontos nukleotid polimorfizmus. 65 (78%) maine coon eredménye genotípus-negatív volt. Ezen macskák 68% (n=56) normál fenotípusú (átlag életkoruk 71 hónap), míg 9 egyed (14%) fHCM-es volt. Az összes (n=12) fenotípus-pozitív maine coon macska genotípus-negatív (75%) volt.

A74T SNP-t találtak a maine coonok közül 28 (35%) egyednél. Ezek közül 79% egészséges fenotípusú, az átlag életkoruk pedig 72 hónap volt. 4 macska volt homozigóta (A/A) és 18 (82%) heterozigóta (G/A). Az A74T mutáció az fHCM-es maine coonok 21%-nál (n=6) volt detektálható, ebből 2 homozigóta és 4 heterozigóta a fenti mutációra.

Az A74T SNP az egyéb vizsgált fajták 62%-nál (n=42) volt kimutatható. A 21 egészséges fenotípusú macskából (91,4 hónap átlag életkorú) 9 egyed volt heterozigóta (G/A), 4 volt homozigóta (A/A), 8 pedig vad típusú (G/G).

Feline hipertrofiás kardiomyopathiát diagnosztizáltak 40 macskánál az egyéb fajtába tartozó egyedek közül (59%). A 40 fHCM-es macska (átlag életkora 108 hónap) 35% (n=14) heterozigóta és 25% (n=10) homozigóta volt az A74T pontmutációra. Az fHCM-es macskák 40%-nál (n=16) nem volt jelen a fenti mutáció.

A kutatás eredményeiből következik, hogy a két pontmutációra végzett teszt esetleges pozitív eredménye nem jelenti, hogy az ECHO vizsgálaton eltérés látható, illetve, hogy kifejlődik a feline hipertrófiás kardiomiopátia a későbbiekben az állatban. A negatív A31P és A74T SNP teszt nem határozza meg, hogy a macska nem fHCM-es, vagy a jövőben nem lesz az [WESS ÉS MTSAL, 2010].

Több kutatás eredménye összegzéseként megállapítható, hogy az A31P SNP mutáció nem prenatális letális faktor [KITTLESON ÉS MTSAL, 1999; MACDONALD ÉS MTSAL, 2007; SAMPEDRANO ÉS MTSAL, 2009].

MARY és munkatársai (2010) az európai macska populációt vizsgáló kutatásukba 3757 macskát, ebből 2744 maine coont vontak be. 2006 és 2009 között vették le a kutatáshoz szükséges szájnyalakártya mintákat. A macskák kardiológiai vizsgálaton vettek részt, és a DNS mintájuk segítségével elvégezték a molekuláris genetikai vizsgálatot az MYBPC3 gén mutációjára nézve.

A DNS kinyeréséhez Nucleospin 96 Tissue DNA Kit-et használtak, a mutáció vizsgálatát PRC technikával végezték.

A molekuláris genetikai vizsgálatok alapján három csoportot különítettek el: (1.) vad típus (G/G), (2.) homozigóta mutáns (C/C) és heterozigóta (G/C).

A kutatásban 17 különböző macskafajtába tartozó, illetve ismeretlen származású egyedek vettek részt, melyek 11 különböző országból származtak (Pl. Belgium, Németország, Franciaország, Luxemburg, Spanyolország, Svájc stb.). A 2-2. táblázat mutatja be a vizsgálati állomány fajta és genotípus szerinti megoszlását.

2-2. táblázat. A vizsgált 3757 macska genotípusának eloszlása az MYBPC3-A31P mutációra nézve

Fajta	N	Genotípus			Hordozók ⁹ (%)
		G/G	G/C	C/C	
Maine coon	2744	1605	1044	95	40,5
Bengáli	1	1	0	0	0
Birman	26	26	0	0	0
Brit hosszúszőrű	2	1	1	0	50
Brit rövidszőrű	43	43	0	0	0
Burmai	1	1	0	0	0
Karthauzi	5	5	0	0	0
Devon rex	4	4	0	0	0
Európai rövidszőrű	10	10	0	0	0
Exotikus rövidszőrű	137	137	0	0	0
Norvég erdei macska	7	7	0	0	0
Ocicat	1	1	0	0	0
Perzsa	685	685	0	0	0
Pixie bob	7	7	0	0	0
Ragdoll	14	14	0	0	0
Skót lógófülű	8	8	0	0	0
Sphynx	60	60	0	0	0
Ismeretlen ^{b10}	2	2	0	0	0
Összesen	3757	2617	1045	95	30,3
Összesen a maine coon nélkül	1013	1012	1	0	<0,1

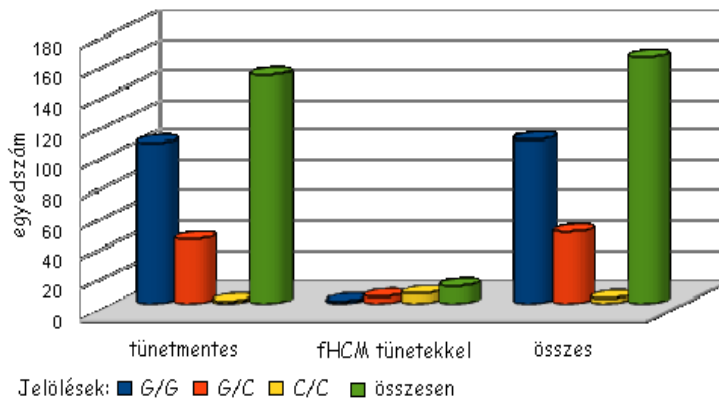
forrás: MARY ÉS MTSAI, 2010 nyomán

Legnagyobb számban a maine coon fajta egyedei voltak (n = 2744). Ebből 58,5% (n = 1605) vadtypus volt, 38,0% (n = 1004) heterozigóta és 3,5% (n = 95) homozigóta mutáns az A31P mutációra nézve. A többi fajtából legnagyobb számban a perzsa macskák vettek részt a kutatásban (67,6%).

⁹ heterozigóta és homozigóta mutáns
¹⁰ nincs információ a fajtáról

A maine coonok mellett egyetlen egyednél volt jelen a mutációt, ez egy brit rövidszőrű macska, heterozigóta státusszal.

Kialakítottak egy 164 maine coonból álló ECHO csoportot, melyből 109 (66%) vad típusú volt, 30% heterozigóta (48/164) és 4% homozigóta mutáns (7/164). Tehát a mutáció gyakorisága 34% volt a vizsgált egyedeknél. Az fHCM gyakorisága az ECHO csoportban 7% (12/164) volt (2-6. ábra).



2-6. ábra. A vizsgált egyedek genotípus (MYBPC3-A31P) és fenotípus (Echo) megoszlása

forrás: MARY ÉS MTSAI, 2010 nyomán

egyednél. A penetrancia 18% volt a $2,6 \pm 2,0$ éves egyedeknél. A vad típusú egyedek 2%-nál (2/109) diagnosztizálták a betegséget (2-3. táblázat).

A mutáció és a betegség gyakorisága között szignifikáns különbséget ($P \leq 0,0001$) igazoltak. FHCM-át diagnosztizáltak mind a mutáns, mind a vad típusú

2-3. táblázat. A vizsgált macskák megoszlása ivar, genotípus, fenotípus, az átlag életkor

ECHO csoport	G/G	G/C	C/C	Összesen	Fenotípus	Életkor(év) átlag ± SD
Tünetmentes kandúr	40	12	0	52	32	2,8±2,2 [0,3-11,5]
Kandúr tünettel	2	4	2	8	5	2,1±1,1 [0,8-4,0]
Összesen	42	16	2	60	37	
Genotípus% kandúr	26	9	1	37		
Átlag életkor ± SD	2,5±2,0 [0,6-8,9]	3,4±2,5 [0,3-11,5]	1,5±0,1 [1,4-1,5]			
Tünetmentes nőstény	67	31	2	100	61	2,5±2,0 [0,4- 10,5]
Nőstény tünettel	0	1	3	4	2	3,4±1,6 [1,2-4,6]
Összesen	67	32	5	104	63	
Genotípus % nőstény	41	20	3	63		
Átlag életkor ± SD	2,3±1,6 [0,4-9,0]	3,0±2,7 [0,5-10,5]	3,2±1,3 [1,2-4,6]			
Összesen	109	48	7	164		2,6±2,0 [0,3- 11,5]

G/G: homozigóta vad típus, G/C: heterozigóta, C/C: homozigóta mutáns az MYBPC3-A31P mutációra

Ez a kutatás a maine coon-ok MYBPC3 mutáció vizsgálatánál arra az eredményre jutott, hogy 41,5% hordozza a mutációt. Ez nagyobb arány, mint más kutatásban korábban leírt 34% (15). Ennek az lehet az oka, hogy a fenti kutatásban főként európai macskák vettek részt, míg a 34%-ra becsült érintettségénél 4 különböző kontinens egyedeit vizsgálták (Észak-Amerika, Európa, Ázsia, Ausztrália).

Következtetésként megállapítható, hogy az európai maine coon macskákban az MBPC3 gén A31P mutációja viszonylag gyakori. A homozigóta egyedekben az fHCM előfordulása sokkal nagyobb arányú mint a mutációra heterozigóta egyedeknél, habár a betegség penetranciája 2,6 éves korban nem teljes [MARY ÉS MTSAI, 2010].

2.3. BIOBANKRÓL ÁLTALÁBAN

Az elmúlt 10-15 évben, főleg humán vonalon, egyre több országban kezdett elterjedni a ún. biobank. Ennek bizonyítéka az is, hogy a Time magazin szerint azon 10 legfontosabb ötletek

egyike a biobank, ami megváltoztatta a világot. [HTTP://WWW.TIME.COM/TIME/SPECIALS/PACKAGES/ARTICLE/0,28804,1884779_1884782_1884766,00.HTML]

Hazánkban, de más külföldi országban is szerveztek már különböző biobankokat, mint például; Nagy-Britanniában, Ausztráliában, Svédországban, Franciaországban és Izlandon [BARANYAI ÉS MTSAI, 2011, HTTP://WWW.UKBIOBANK.AC.UK/, HTTP://WWW.DECODE.COM/, HTTP://WWW.GENAU.AT, HTTP://WWW.BIOBANKS.SE, HTTP://EPIC.IARC.FR]. A biobank egy olyan biológiai mintára épülő gyűjtemény, melyhez a mintát adó élőlényről különböző adatok is tárolásra kerülnek (a mintán kívül). Ezt azért fontos kiemelni, mert a biobank nem csupán egy biológiai minta gyűjtemény, hanem egy nagy adat gyűjtemény is.

Az élőlények alapján megkülönböztetünk humán-, állati-, növényi, mikorbiális és egyéb. biobankokat. A tárolt biológiai minták tárháza is nagy számú, emberi- és állati biobankok esetében főleg szövettani minták, vérminták, szőr (haj) minták, DNS-minták stb. Ebből is látszik, hogy a kísérletek megtervezéséhez igazítják a biobankok létrehozását, azaz a biobanknak az adott kutatást kell rövid- és hosszútávon szolgálnia.

2.3.1. Biobank, mint genetikai adattár

A biobankok esetén ki kell emelni azt, hogy az élőlények testéből kivett minták genetikai adatokat is hordoznak, így a biobankok genetikai adatokat tárolnak.

A 2003-ban alapított GKEE Konzorcium (Genomikai Kutatás az Emberi Egészségért, www.humangenom.hu) nevében is jelzett célkitűzéseinek megfelelően, egyik részfeladataként a magyarországi human (emberi) biobankokkal foglalkozik. Bármely emberi szövetet tartalmazó gyűjtemény mintái kizárólag önkéntes donorokból (adományozókból) származhatnak, akik tudatában vannak, hogy a testükből vett mintákat a gyógyulásuk, vagy a kutatás érdekében különböző vizsgálatoknak fogják alávetni, illetve a vizsgálatok elvégzése után is valamennyi ideig tárolni fogják azokat. Erről az egészségügyi intézmények és a kutatók a megfelelő formanyomtatványok segítségével tájékoztatják a pácienseket, donorokat. A humán biobankokat a mintagyűjtés és későbbi hasznosítás céljai szerint több csoportba oszthatjuk [FORRÁS: WWW.BIOBANKS.HU].

2.3.2. Macska biobank

Annak ellenére, hogy az emberi biobankok fejlesztése rohamos fejlődésnek indult, a macska fajták (Felidae) esetében kevés információ áll a rendelkezésünkre. Biobank fejlesztésről szóló tudományos közlemény – macska vonalon létrehozott biobank – kizárólag az ibériai hiúz (spanyol hiúz, párduchiúz, *Lynx pardinus*, Temminck, 1827) fajról található a szakirodalomban [LEON-QUINTO ÉS MTSAI, 2009], és egyelőre más macskafélék családjába tartozó faj biobankjáról nem publikáltak.

Vannak ugyan macska biobank kezdeményezések külföldön, például Angliában [<http://www.rvc.ac.uk/act/RVCResearch.cfm>], de erről tudományos folyóiratban nem publikáltak eddig. Az Irodalmi áttekintésben bemutatott tudományos közleményekben a biobank létrehozás nem szerepel eredményként, habár nagy számú minta vizsgálatát mutatják be.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. A VIZSGÁLAT ANYAGA

A magyarországi maine coon állományban végzett vizsgálatunk a tenyésztők bevonásával történt. Egy internetes oldalon (<http://catsofeurope.eu/blog/genetika/>) került meghirdetésre a kutatás, melyhez bárki csatlakozhatott. A jelentkezőknek, kérésre postai úton küldtünk mintavevő pálcát, illetve a Macskamánia Magyar Macska Egyesület által szervezett kiállításon 120 macskától vettük le a szájnyalkahártya mintát.

Mindemellett a kutatásban résztvevő macskák tulajdonosai egy kérdőívet is kitöltöttek a macskáról (7-2-3. Függelék). Ebben szerepelt *a macska neve*, a származási lapján lévő *regisztrációs száma*, *a chip száma* (ha el van látva chippel az egyed), *születési helye*, *és ideje (hónap-napra lebontva)*, *ivara*, *testhossza*, *testtömege*, *szőr és szemszíne*. Rákérdeztünk néhány szaporodásbiológiai jellemzőre is, úgymint az *eddig vemhességek száma*, *az első vemhesség ideje*, *az élve*, *illetve halva született utódok száma* és arra, hogy *az első vemhesség hányadik pároztatás után lett sikeres*.

Természetesen a kutatásba ivartalanított macskákat is bevontunk, ezt külön fel is tüntettük a macska adatai között. A macska adatai mellett a tulajdonos elérhetőségeit is regisztráltuk mivel a kutatás együttműködve folyik a tulajdonosokkal, így bármilyen eredményt azonnal tudunk közölni velük. A kutatás teljesen anonim, tehát egyetlen egyedről sem kerül nyilvánosságra semmilyen adat, minden eredmény csak populáció szinten kerülhet nyilvánosságra. Ezért minden egyed szájnyalkahártya mintavevő eszközén egy belső azonosító szerepel csak, így a laboratóriumi vizsgálatok során nem lehet beazonosítani adott egyedet. A kutatásban való részvételhez a tulajdonos egy beleegyező nyilatkozatot is kitöltött. Az állat adatai mellett pedig csatolni kellett a származási lap másolatát. A kérdőíven szerepel, hogy a mintavételt ki végezte, mikor és hol. Ezt aláírásával igazolta a mintavevő személy.

3.2. A VIZSGÁLAT MÓDSZERE

3.2.1. Szájnyálkahártya-mintavétel

Minden macskánál szájnyálkahártya-mintavétellel gyűjtöttük a kísérletekhez szükséges DNS-mintát. Minden mintavételhez a Copan cég steril mintavevő eszközét használtuk az előírásnak megfelelően (Copan).

3.2.2. DNS tisztítás

Minden egyes biológiai mintából *NucleoSpin® Tissue DNS izoláló* rendszerrel végeztük el a genomi DNS kinyerését (Macherey–Nagel). A DNS izoláló rendszer során az alábbi reagenseket használtuk fel az előírtaknak megfelelően: T1 Lízis puffer és proteináz-K enzim (sejtfeltárás, RNS bontás); B3 puffer (dehidratálás); BW mosó puffer; B5 mosó puffer (DNS mosása); BE elúciós puffer (10mM Tris-HCl, pH=8,4; DNS oldás, tárolás).

A mintavételi pálcákról 200 µl steril desztillált vízzel nyertük le a sejteket, melyeket bemértük egy 1,5 ml-es Eppendorf csőbe. 25 µl Proteináz-K hozzáadása után 200 µl B3 puffert adtunk hozzá, vortexeltük, majd 5 percig szobahőmérsékleten és további 15 percig 70°C-os termosztátban inkubáltuk. Az oldat DNS kötő kondícióját 210 µl Etanol (96%) hozzáadásával és vortexelésével értük el. A DNS membránon való megkötéséhez az így keletkezett (~700 µl) preparátumot gyűjtőcsőbe állított NucleoSpine® Tissue Kolonnára pipettáztuk, majd 1 percig 11000 x g centrifugáltuk. Amennyiben a minta nem folyt át teljesen a kolonnán, újabb 1 percig magasabb fordulatszámon centrifugáltuk. Minden centrifugálás után a gyűjtődény tartalmát ürítettük. A szilika membránt két lépésben mostuk. *Első mosás:* 500 µl BW Pufferrel töltöttük fel, majd újabb 1 perces centrifugálás 11000 x g. A gyűjtőcsövet ezután ürítettük. *Második mosás:* 600 µl B5 Pufferrel töltöttük fel, majd újabb 1 perces centrifugálás 11000 x g. A gyűjtőcsövet ez után ürítettük. Ez után a szilika membránt szárítani kell újabb 1 percig tartó 11000 x g centrifugálással. A gyűjtőcsőből Eppendorf csőbe helyezük a kolonnát. A nagy tisztaságú DNS eluáláshoz 50 µl előmelegített BE Pufferrel (70°C) töltöttük fel a kolonnát, állni hagytuk 1 percig szobahőmérsékleten, majd centrifugáltuk 1 percig 11000 x g-n. A tisztított DNS mintákat steril Eppendorf csőben -20°C-on tároltuk.

3.2.3. DNS mennyiségi és minőségi ellenőrzése

Spektrofotometriás méréssel állapítottuk meg a tisztított DNS-oldat koncentrációját és tisztaságát. Minden méréshez NanoDrop ND-1000 Spektrofotométert használtunk [NanoDrop]. A mért értékeket az nd-1000 számítógépes szoftver használatával kaptuk meg (DNA-50 Sample Type beállítással). Ennek az az alapja, hogy az aromás szerkezetű nukleinsav bázisok delokalizált elektronszerkezetük miatt ultraibolya tartományú fénnel könnyen gerjeszthetők, 260 nm hullámhosszúságon fényabszorpció (extinkció) maximumuk van. Amennyiben a minta 260 nm hullámhosszon mért abszorbancia értéke 1,0, az megfeleltethető 50 µg/ml koncentrációjú, duplaszálú DNS oldatának. A DNS oldat fehérjével való szennyezettségének meghatározása az A_{260}/A_{230} hányados kiszámításával történhet. A nukleinsavak abszorpciója ugyanis 230 nm környékén minimális, míg az aminosavak jól elnyelnek ezen a hullámhosszon. Ideális minta esetén a hányados nagyobb, mint 2. (DNS-RNS: 2-2,2). A fehérje szennyezettség mértéke az A_{260}/A_{280} hányados meghatározása révén is megadható, mivel az aromás aminosavaknak 280 nm-en elnyelési maximumuk van. Tiszta DNS oldat esetén a hányados értéke 1,8-2,0 közé esik. 1,8-nál alacsonyabb érték fehérje szennyezettségre utal, 2,0-nél magasabb érték pedig RNS-sel való dekontaminációt feltételez. A fehérjék aromás aminosav tartalma azonban változó, ezért ez a módszer az előzőnél kevésbé alkalmas a DNS oldat tisztaságának ellenőrzésére.

3.2.4. Primer tervezés

A kísérlet során használt oligonukleotidokat (primereket) szekvenálás módszerhez terveztük meg. A primereket Primer Express Software-rel (Applied Biosystems) terveztük meg. A szekvenciák ellenőrzésére a PubMed adatbázisát használtuk. A PCR reakciókhoz az alábbi primereket használtuk (HCMF1 5'-ttgccagcatcggatggtaggag - 3', HCMR1 5'-ctagttcaggattaacggagaaggc - 3', HCMF2 5'-agtctcagccttcagcaagaagcc - 3', HCMR2 5' - ggtcaaacttgaccttgaggagcc - 3').

3.2.5. Szekvenálás

A szekvenálást BigDye Terminator v3.1 kittel (Applied Biosystems) végeztük el 20 µl végtérfogóban: 100 ng tisztított PCR termék, 1 pmol Forward vagy Reverse primer 2 µl BigDye Master Mix (Applied Biosystems), 1,2 µl 5x hígító puffer (Applied Biosystems) desztillált vízzel 20 µl-re kiegészítve. Szekvenáló PCR program: 96°C, 30 másodperc; 30 ciklus, 96°C 10 másodperc, 55°C 15 másodperc és 60°C 4 perc. A szekvenáló PCR terméket 55 µl 96%-os etanollal és 2 µl 2 M-os Na-acetáttal dehidratáltuk, majd kétszer 500µl 70%-os etanollal átmostuk, végül beszáritottuk.

A beszárított DNS-t 40 µl formaldehydben oldottuk fel, 96°C-on 5 percig denaturáltuk, majd az ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) készülékkel meghatároztuk a bázissortrendet. Az eredményeket Chromas 3.0 software-rel (Technelysium Pty. Ltd., Helensvale, Queensland, Australia) értékeltük ki.

3.2.6. Statisztikai elemzés

A kérdőívek feldolgozása Microsoft Excel táblázat segítségével történt. Az ivart, a szőr és szemszínt átkódolva statisztikai táblázatok formájában került feldolgozásra. A szemléltető diagramokat Microsoft Office 2003 csomag Excel programjával készítettük.

4. EREDMÉNYEK ISMERTETÉSE ÉS ÉRTÉKELÉSE

4.1. BIOBANK ELŐKÉSZÍTÉSE ÉS LÉTREHOZÁSA

A 2011-ben indult kutatásunk részeként először a maine coon fajtájú macskák mintáiból egy biobankot hoztunk létre. A biobank létrehozásához szükséges lépések:

- I. Macska tulajdonosok tájékoztatása,
- II. Kutatási tájékoztató és beleegyező nyilatkozatok aláírása (7-2-1. Függelék),
- III. Adatlapok kitöltése (információ gyűjtése az egyedről) (7-2-2. Függelék),
- IV. Szájnyálkahártya-mintavétel és DNS izolálás,
- V. Kódolás, anonimizálás, adatok archiválása.

4.1.1. Tájékoztatás és a nyilatkozatok kitöltése

A macska tulajdonosok tájékoztatását a Macskamánia magazinban és különböző szakhonlapokon indítottuk el. A felmerülő kérdésekre szóban és e-mailekkel adtuk választ. A tájékoztató és beleegyező nyilatkozatok kitöltését és aláírását a Macskamánia Magyar Macska Egyesület 2011. tavaszi kiállításán kezdtük el. Azért választottuk a kiállítást a kutatás elindítására, mert itt egyszerre és egy helyen jelen volt a maine coon tenyésztők túlnyomó többsége. A kétnapos kiállítás alatt elegendő idő volt a tulajdonosok tájékoztatására és a kutatáshoz szükséges nyilatkozatok kitöltésére. A kiállítás során 21 tenyésztő közel 120 macskájáról gyűjtöttünk mintát. Azok a tulajdonosok, akik egyéb okból nem tudtak a kiállításon mintát szolgáltatni, de szerettek volna részt venni a kutatásban, és ezzel a biobankba is bekerülni, utólag postai úton hozzájuthattak a mintavevő pálcához. A kitöltött nyilatkozatokat és a felhasznált mintavételi eszközt szintén postai úton kaptuk meg. 2011 júniusáig közel 80 macska került bevonásra ilyen módon a kutatásba. A nyilatkozaton az aláírásával igazolta a mintavevő személy, hogy mikor és hol vette le a mintát az egyedről.

A tájékoztató és bejegyző nyilatkozatban a következő területekre tértünk ki:

- 1/ A kutatás célja, hogy a magyar maine coon állományról egy átfogó adatbázis épüljön ki, melyből genetikai kísérletek végezhetők el.
- 2/ A macska tulajdonosoknak előnye származik a kutatásból, mert az eredmények hozzájárulnak a hazai maine coon fajta egészségvédelméhez (örökletes betegségek szűréséhez).

3/ A kutatásban való részvétel nem kötelező. A macska tulajdonos maga dönt arról, hogy csatlakozni kíván-e a kutatáshoz. Bármikor dönthet úgy, hogy visszavonja írásban a részvételi szándékát.

4/ Minden kutatásban résztvevő tulajdonost és macskát anonimizálunk, és kódolunk. A kutatási eredményekből egyetlen tulajdonos és macska sem azonosítható be.

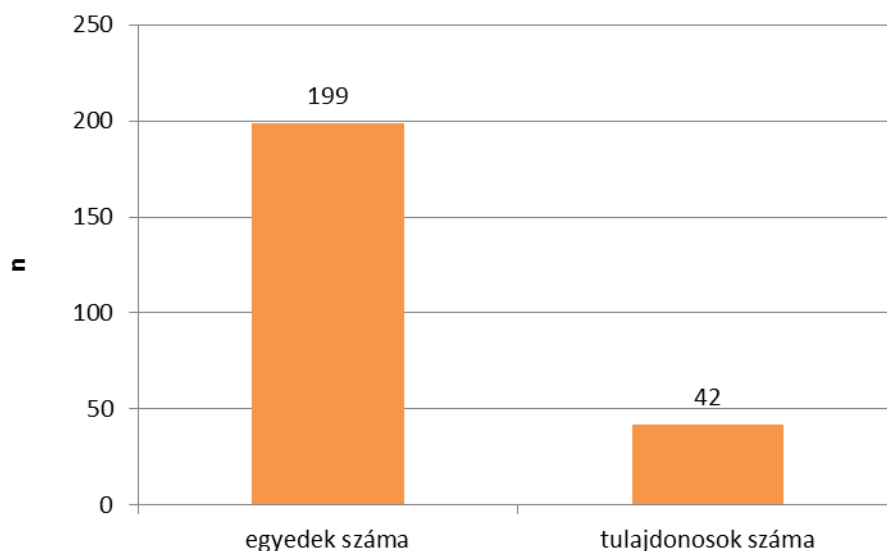
5/ A macska tulajdonos beleegyezik abba, hogy szájnyalkahártya-mintát ad a tulajdonában lévő macskáról, valamint a származási lap másolatát és a macskára vonatkozó adatokat biztosítja a kutatás számára.

4.1.2. Maine coon biobank felállítása

2011. júliusában 199 maine coon macska szájnyalkahártya-mintájából nyertük ki a DNS-t. A kóddal ellátott minták -20°C -on kerültek tárolásra a szakmai előírásoknak megfelelően. A kóddal ellátott minták mellé létrehoztunk egy elektronikus adatbázist, amelyben a kutatási adatok statisztikai feldolgozásra alkalmas formában kerültek archiválásra. A kialakított maine coon biobankban dupla kódolást használtunk, ami azt jelenti, hogy a DNS minták és az adott mintához tartozó adatok más kóddal lettek ellátva. A kódok értelmezéséhez szükséges információhoz csak a kutatás vezetői férnek hozzá. A biobank elektronikus adata bármikor hozzárendelhető adott DNS mintához és fordítva. A statisztikai előkészítés azt teszi lehetővé, hogy az új genetikai eredmények egyszerűen, akár néhány óra alatt populációs szintű kiértékeléshez vezethetnek.

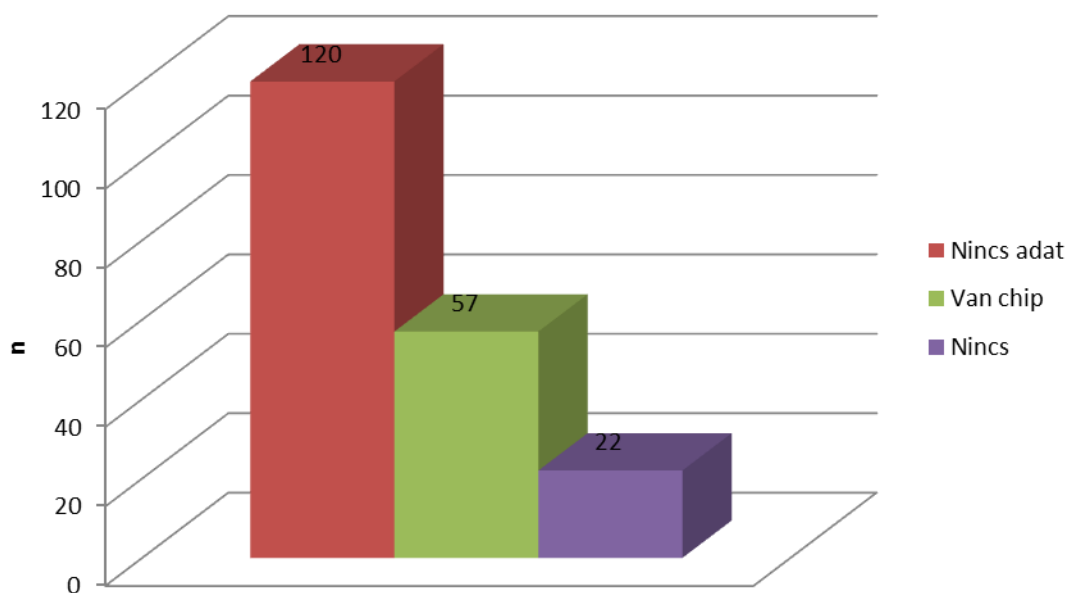
4.1.3. A Maine coon biobank statisztikai jellemzői

A kutatásba bevont 199 maine coon fajtájú macska 42 tulajdonoshoz tartozik (4-1. ábra). Mivel a kutatást a jövőben is tervezzük folytatni, ezért várható a biobank folyamatos bővülése.



4-1. ábra. Egyedek és tulajdonosok száma

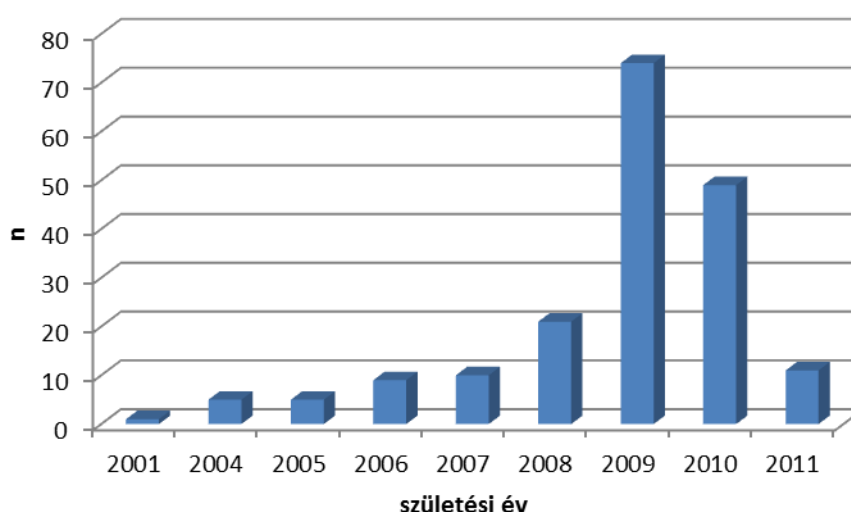
Az egyed neve, és törzskönyvi száma mellett rákérdeztünk arra, hogy az egyedi azonosítás érdekében chip-el ellátták-e az egyedet. A macskák nagyrészenél nem áll rendelkezésünkre információ arról, hogy van-e chip az állatban vagy nincsen. Biztosan tudjuk 22 macskáról, hogy nincs ellátva chip-el és 57 egyedet már bechipezték. (4-2. ábra)



4-2. ábra. Chip ellátottság (n=199)

A biobank jelenlegi állományát nemcsak magyarországi tenyészetből származó egyedek alkotják. A 110 macska, melynek ismerjük a születési helyét Magyarország mellett többek között németországi, csehországi, lengyelországi, szlovákiai tenyészetből származik. Azonban a mintáink nagy része Budapesten született egyedektől való (n = 28) (7-2-4. ábra, 7-2-5. ábra Függelék).

A kutatásunk a tenyésztők bevonásával és együttműködésével zajlott, ebből következően az önkéntesség elve érvényesült. Így lehetséges, hogy az egyedek életkorának eloszlását vizsgálva azt az eredményt kaptuk, hogy a legtöbb egyed 2009-es születésű ($n=74$). Ennél kevesebb, de a többi évnél kiemelkedően több vizsgált egyed született 2010-ben ($n=49$). A biobank állományának korszerinti megoszlását a 4-3. ábra szemlélteti.

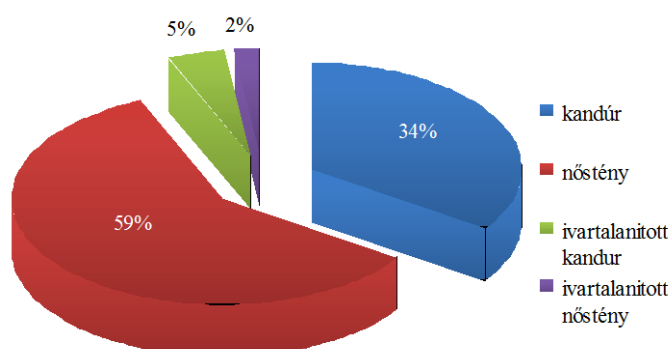


4-3. ábra. Születési év eloszlása ($n=185$)

A vizsgálati állomány 14 egyedének nem ismert a születési éve.

Az ivari megoszlást vizsgálva az eredményre jutottunk, a születési adatokhoz hasonlóan itt sem teljes az adatközlés, 45 egyednél hiányzik az ivar megjelölése. Továbbá, hogy a nem ivartalanított nőtények vesznek részt a kutatásban legnagyobb számban ($n=91$).

va, arra

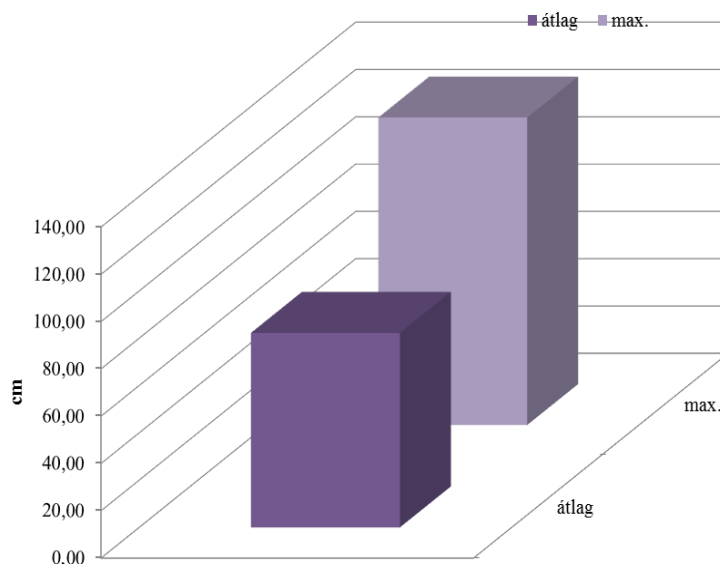


4-4. ábra. Az ivarok megoszlása ($n=154$)

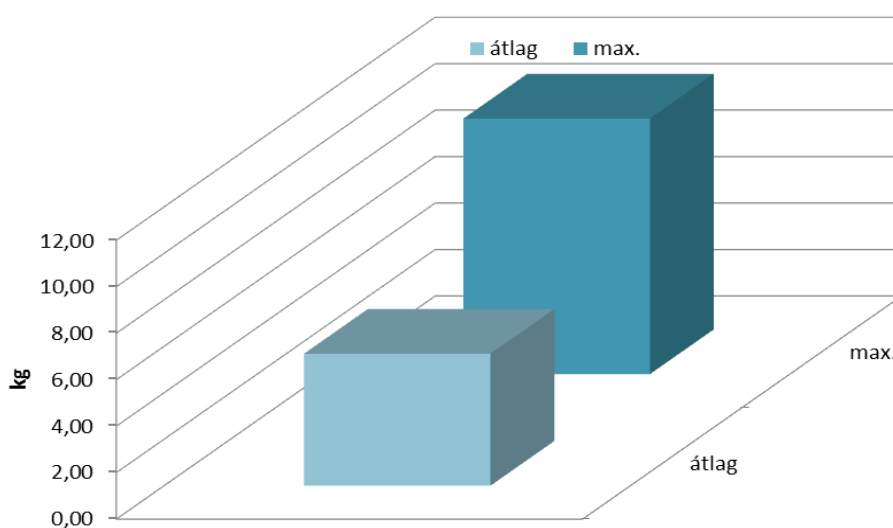
A nem

ivartalanított kandúrok száma 53. Az ivartalanított nőtények ($n=3$) és ivartalanított kandúrok ($n=7$) száma szignifikánsan alacsonyabb mint a nem ivartalanított egyedeké. Ennek oka valószínűleg az, hogy a Macskamánia Magyar Macska Egyesület kiállításán főként tenyészállatok vesznek részt (4-4. ábra).

A maine coon az egyik legnagyobb testű házimacskafajta. A vizsgált állományban a legnagyobb testtömeggel rendelkező egyed 11 kg-os, a legnagyobb testhosszal rendelkező, pedig 130 cm-es. Az átlag testtömeg 5,68 kg volt ($n=134$), míg az átlag testhossz 82,25 cm ($n=143$). A kisebb átlagos testtömeg és testhossz valószínűleg a nőstények nagyobb arányával magyarázható (4-5. és 4-6. ábrák).



4-5. ábra. Testhossz átlagos és maximális szélső értéke ($n=134$)



4-6. ábra. Testsúly átlagos és maximális értéke ($n=143$)

4.2. A FELINE HIPERTRÓFIÁS KARDIOMIOPÁRIA SZŰRÉSE

4.2.1. A31P-mutáció előfordulásának felmérése

A kialakított maine coon biobank mintáit felhasználtuk a feline hipertrófiás kardiomiopátia betegség hordozóságának felmérésére. A kutatás első lépéseként a génváltozatok előfordulási gyakoriságát vizsgáltuk.

2011. október 31-ig a biobankban szereplő 199 maine coon macskából 158 esetében végeztük el a fHCM kialakulásában szerepet játszó MYBPC3 gén A31P-mutáció¹¹ szűrését. Ennek összefoglaló eredményeit a 4-1. táblázat tartalmazza.

4-1. táblázat. A vizsgált 158 macska genotípusának eloszlása az MYBPC3 A31P mutációra nézve

Fajta	N	Genotípus			A mutáció jelenléte (%)
		G/G	G/C	C/C	
Maine coon	158	128	29	1	18,9

A 158 vizsgált egyedből 29 esetében találtunk 1 kópiában A31P-mutációt (18,3%), azaz 29 egyed heterozigóta a betegség alléljére. 1 egyednél találtunk 2 kópia A31P-mutációt (0,6%), ez a homozigóta recesszív genotípus (C/C). 128 egyednél nem tudtuk kimutatni az A31P-mutációt (81,01%), ezek a homozigóta domináns (G/G) genotípusú egyedek, azaz a mentesek. Így a vizsgált 158 egyedből álló populáció esetében 30 egyednél azonosítottuk az A31P-mutáció jelenlétét (18,9%). A tenyésztés szempontjából veszélyes hordozók¹² aránya a vizsgált állományban 18,4%.

Az elvégzett A31P-mutáció felmérést kiindulási állapotnak tekintjük, amit az egész tenyészállományra célszerű lenne elvégezni ahhoz, hogy a tenyésztőknek a döntéshozatalhoz pontos információk álljanak rendelkezésre. Magyarországon 5000 – 6000 egyedre becsülik¹³ a maine coon állományt. A biobankban alapvetően a tenyészállatok szerepelnek¹⁴, ezért az eredmények a kisebb mintaszám ellenére is következtetések levonására adhatnak lehetőséget.

¹¹ Az A31P pontmutáció esetén guanin helyett citozin található

¹² Hordozó = fenotípusosan egészséges, de a betegséget örökíti

¹³ Macskamánia, Magyar Macska Egyesület szóban közölt adatai alapján náluk 2500-3000 egyed van regisztrálva, és kb. ugyanennyire becsülik más egyesületnél lévő állomány nagyságát.

¹⁴ A biobank feldolgozási állapota az A31P-mutációra nézve e 79%-os.

4.2.2. A74T-mutáció előfordulásának felmérése

2011. október 31.-éig a biobankban szereplő 199 maine coon macskából ugyanannak a 158 egyednek végeztük el a fHCM kialakulásában szerepet játszó MYBPC3 gén A74T-mutáció¹⁵ szűrését. A 4-2. táblázat az eredményeket tartalmazza.

4-2. táblázat. A vizsgált 158 macska genotípusának eloszlása az MYBPC3 A74T mutációra nézve

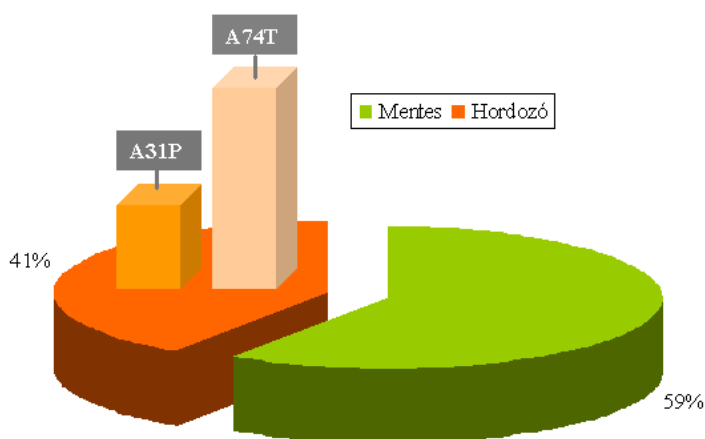
Fajta	N	Genotípus			Hordozók (%)
		G/G	G/A	A/A	
Maine coon	158	124	34	0	21,5

A 158 vizsgált egyedből 34 esetében találtunk 1 kópiában A74T-mutációt, azaz a heterozigóta egyedek (G/A) aránya 21,5%, homozigóta mutáns egyed (A/A) nem találtunk (0%). 124 egyednél nem tudtuk kimutatni az A74T-mutációt (79,5%).

4.2.3. A31P és A74T mutáció előfordulása

A 158 vizsgált egyedből 64-nél találtunk mutációt (40,4%) a MYBPC3 génben. Az A31P-mutációt 30 macskában azonosítottuk (46,8%-a a hordozóknak), míg a A74T-mutációt 34 esetben igazoltuk (53,2%-a a hordozóknak). A vizsgált populáció 59,6%-a nem hordozza egyik mutációt sem. Egy olyan egyedet találtunk, mely 1-1 kópiában mindkét mutációt hordozza (1,56%-a a hordozóknak).

Összességben megállapítható, hogy az A74T mutáció előfordulási gyakorisága a nagyobb a vizsgált populációban. Ez az eredmény az irodalmi adatokkal egybeesik, hiszen KITTLESON és munkatársai (2010) szintén az A74T mutáció előfordulási gyakoriságát találták nagyobbaknak (35%) az A31P mutációhoz viszonyítva (22%).



4-7. ábra. A mentes és hordozó egyedek, és a A31P és A74T pontmutációk %-os megoszlása

¹⁵ Az A31P pontmutáció esetén guanin helyett adenin található

Mivel az irodalmi adatok alapján a leírt mutációk szerepe nem teljesen tisztázott a betegség tüneteinek kialakulási kockázatában, ezért 7 csoportot (CS1-CS7) különítettük el a kutatás nyomon követési fázisára (kardiológiai státusz genotípus asszociáció):

1/ Mutációt nem hordozó csoport (CS1)

2/ Mutációt hordozó egyedek (CS2-CS7)

2/1 A31P mutációt hordozók

2/1/1. Heterozigóta csoport (CS2)

2/1/2 Homozigóta csoport (CS3)

2/2 A74T mutációt hordozók

2/2/1. Heterozigóta csoport (CS4)

2/2/2 Homozigóta csoport (CS5)

2/3 A31P és A74T mutációt hordozók

2/3/1. Heterozigóta csoport (CS6)

2/3/2 Homozigóta csoport (CS7)

5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

A maine coon biobank létrehozását fontos kiindulási lépésnek tekintjük a hazai állomány pontosabb megismerésében. Átfogó, populáció szintű elemzések nem állnak rendelkezésre a hazai állományról. Az egyedszámról is csak becsült adat áll a rendelkezésre, kb. 5000 – 6000 egyedre teszik a populáció nagyságát. A 199 egyedből álló biobank túlnyomó többsége a hazai tenyésztők tulajdonában lévő egyedek mintáiból tevődik össze. Mivel tenyészállatokat vizsgáltunk, így az alacsonyabb mintaszámból is vonhatóak le közvetett következtetések.

A biobank létrehozásának megszervezése és kivitelezése lehetőséget teremtett arra, hogy a maine coon tenyésztők tapasztalatot szerezzenek a kutatás menetéről. Ez azért kiemelendő, mert a nagyobb számú egyed vizsgálata és az egyedek hosszú távú nyomon követése kivitelezhetetlen a macska tulajdonosok hozzájárulása nélkül.

A biobank felállítása alapján felmérés készült a hazai maine coon állomány egy részének születési helyéről, testtömegéről és egyéb tulajdonságáról. Sajnálatos, hogy nem minden egyedről küldték be a tulajdonosok a kiegészítő információkat (születési év, ivar, testméretek stb.). Ezen a téren javítani kell az együttműködést, felhívva a tulajdonosok figyelmét arra, hogy a betegség kifejeződésében a nem genetikai eredetű tényezőknek is lehet szerepe. Ezek feltérképezésében, hatásvizsgálatok elvégzésében ezek az ismeretek nélkülözhetetlenek.

A fajtát érintő örökletes megbetegedések közül a feline hipertrófiás kardiomiopátia vizsgálata nagymértékben hozzájárul a hazai állomány egészségének felméréséhez. A MYPBC3 gén A31P és A74T mutáció szűrése alapján 7 csoportot különítettünk el: (I) normál egyedek (mutációt nem hordozó egyedek), (II) mutációt hordozó egyedek, melyen belül 6 csoportot különítettünk el a heterozigóta és homozigóta mutáns egyedek alapján. A 7 csoportba tartozó egyedek évenkénti kardiológiai nyomon követését tervezzük a fHCM tünetek megjelenésének ellenőrzésére. Mivel a biobankban szereplő egyedek döntően 2009 és 2011 között születtek, ezért a hordozók hosszú távú nyomon követése alapvető fontosságú. A következő lépéseket tervezzük a kutatás folytatásában:

1/ A31P és A74T mutáció hordozó macskák évenkénti felülvizsgálata (kardiológiai státusz ellenőrzése). A biobankban szereplő összes egyed (n=199) mutáció szűrésének elvégzése.

2/ Kardiológiai nyomonkövetés alapján levont eredmények összevetése a nemzetközi tanulmányokkal.

3/ A biobankban szereplő egyedek számának bővítése. A lehetőségekhez mérten azt tervezzük, hogy 500-1000 egyed biobank felvételét elvégezzük az elkövetkező 2-3 évben (becsült populáció 10-20%-a).

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A házimacska fajtákban előforduló örökletes betegségek korai szűrése alapvető fontosságú az állomány egészségének megőrzésében. A hazai maine coon állományról kevés információ áll rendelkezésünkre, átfogó populáció felmérés és genetikai elemzés máig nem történt. A populáció szintű elemzések és nyomonkövetés alapját a biobankok képezik. Jelen kutatásban megalapítottuk a hazai maine coon állomány biobankját, és megkezdtuk a mintaállomány feltöltését. 2011. júliusában 199 maine coon macska szájnyalkahártya-mintájából nyertük ki a DNS-t. A kóddal ellátott mintákat -20°C -on tároljuk a szakmai előírásoknak megfelelően. A kóddal ellátott minták mellé létrehoztunk egy elektronikus adatbázist, amelyben a kutatási adatok statisztikai feldolgozásra alkalmas formában kerültek archiválásra. A kialakított maine coon biobankban dupla kódolást használtunk, ami azt jelenti, hogy a DNS minták és az adott mintához tartozó adatokat más kóddal láttuk el.

A maine coon fajtát érintő egyik leggyakoribb örökletes megbetegedés a *feline hipertrófiás kardiomiopátia* (fHCM), mely a szívkamra megvastagodását jelenti. A betegség hátterében a MYBPC3 gén két mutációját azonosították (A31P és A74T), melyek szerepe a tünetek kialakulásában ma még nem teljesen ismert. A biobankban szereplő 158 egyednél elvégeztük a két mutáció szűrését, mely alapján 30 egyednél azonosítottuk az A31P-mutáció jelenlétét (18,9%), míg 34 egyednél az A74T-mutációt (21,5%). A vizsgált 158 egyedből 63 esetében csak az egyik mutáció hordozóságát tudtuk kimutatni (39,8%). 1 egynél 1 kópiában az A31P és A74T mutáció együttes hordozóságát (0,6%) állapítottuk meg.

A kutatás következő lépésében a mutációt hordozó és nem hordozó egyedek évenkénti kardiológiai státuszának nyomon követését tervezzük. 7 csoportot különítettünk el a vizsgált egyedeken belül: (I) normál egyedek (mutációt nem hordozó egyedek), (II) mutációt hordozó egyedek, melyen belül 6 csoportot különítettünk el a heterozigóta és homozigóta mutáns egyedek alapján. Mivel a biobankban szereplő egyedek döntően 2009 és 2011 között születtek, ezért a hordozók hosszú távú nyomon követése alapvető fontosságú.

7. MELLÉKLETEK

7.1. IRODALOMJEGYZÉK

BARANYAI ZS., MERSICH T., DEDE K., BESZNYÁK I., ZARÁND A., TEKNŐS D., NAGY P., SALAMON F., NAGY P, NAGY ZS., KÓTAI ZS., SZÁSZ M., LUKÁCS L., SZÁLLÁSI Z., JÓSA V., JAKAB F., (2011): Projektalapú mintagyűjtéstől a biobankig. Orvosi Hetilap, 2011, 152, 606-609

BASS, SH. P. (1983): This is the Maine Coon Cat. Neptune City, N.J. T.F.H. Publications, Inc.

BEANE, CH. (1979): "The Marvelous, Mellow Maine Coon," Cat Fancy, June, pp 20-23.

EMINHIZER, E. E. (1970): "The Maine Coon Cat." CFA Yearbook, pp. 426-428.

EMINHIZER, L. D. (1967): "The All American Cat." Cats Magazine, June, pp. 10-11.

FRIES, R., HEANEY, AM., MEURS, KM. (2008): Prevalence of the myosin-binding protein C mutation in Maine Coon cats. J Vet Intern Med, 22:893-896

GEBHARDT, R. (1991): The Complete Cat Book. Mirabel.

GODIKSEN, M. TN, GRANSTROM, S., KOCH. J., CHRISTIANSEN. M., (2011): Hypertrophic cardiomyopathy in young Maine Coon cats caused by the p.A31P cMyBP-C mutation – the clinical significance of having the mutation. Acta Veterinaria Scandinavica 2011, 53:7doi:10.1186/1751-0147-53-7

HANSEN, H. (1976): "The Maine Coon Cat." CFA Yearbook, pp. 322-323.

HOLBY, D. (1988): "The Legendary Maine Coon." Cat Fancy, Feb. pp. 36-41.

HORNIDGE, M. (1991): That Yankee Cat: The Maine Coon. Rev. ed. Gardiner, Me.: Tilbury House, Publications.

JACOBBERGER, P. (1995): "The Maine Coon Cat." Cat Fancy, Jan. pp 32-33.

JEROME M. MS., CHETBOUL, V., SAMPEDRANO, C.C. ABITBOL, M. GOUNI, V., TREHIOU-SECHI, E., TISSIER, R., QUENEY, G. POUCHOLON, J-L., THOMAS, A. (2010): Prevalence of the MYBPC3-A31P mutation in a large European feline population and association with hypertrophic cardiomyopathy in the Maine Coon breed

KITTLESON, M. D. (2010): NT-proBNP measurement fails to reliably identify subclinical hypertrophic cardiomyopathy in Maine Coon cats ISFM and AAFP. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved

KITTLESON, MD., MEURS, KM., EDERER, MM. ÉS MTSAI (1999): Familial hypertrophic cardiomyopathy in Maine Coon cats: An animal model of human disease. Circulation

99:3172-3180

KITTLESON MD, MEURS K, MUNRO M. (2010): Re: Association of A31P and A74T polymorphisms in the myosin binding protein C3 gene and hypertrophic cardiomyopathy in Maine Coon and other breed cats. J Vet Intern Med. 2010 Nov-Dec;24(6):1242-3;

LEON-QUINTO, T., SIMON, MA., CADENAS, R., JONES, J., MARTINEZ-HERNANDEZ, F.J, MORENO JM., VARGAS, A., MARTINEZ, F., SORIA, B., (2009): Developing biological resource banks as a supporting tool for wildlife reproduction and conservation The Iberian lynx bank as a model for other endangered species. Anim Reprod Sci. 2009.06.;112(3-4):347-6

LYONS, L. A. (2010): Feline Genetics: Clinical Applications and Genetic testing. Top Companion Anim Med. 2010 Nov;25(4):203-12

MACDONALD, KA., KITTLESON, MD., KASS, PH. ÉS MTSAI (2007): Tissue Doppler imaging in Maine Coon cats with a mutation of myosin binding protein C with or without hypertrophy. J Vet Intern Med, 21:232-237

MAGGITTI, PH. (1987): "The Maine Coon." Cats Magazine, Jan., pp 4-5.

MALESKY, G. (1978): "Maine Coons: Our Yankee Supercats." Cats Magazine, October, pp. 8-10.

MARTINKE, J. S. (1969) : "Our Yankee Cat Goes National." Cats Magazine, July, pp. 10-11.

MARY J, CHETBOUL V, SAMPEDRANO CC, ABITBOL M, GOUNI V, TREHIOU-SECHI E, TISSIER R, QUENEY G, POUCHOLON JL, THOMAS A.. (2009): Prospective echocardiographic and tissue Doppler imaging screening of a population of Maine Coon cats tested for the A31P mutation in the myosin-binding protein C gene: a specific analysis of the heterozygous status. J Vet Intern Med. 2009 Jan-Feb;23(1):91-9.

MEURS, KM., SANCHEZ, X., DAVID, RM. ÉS MTSAI (2005): A cardiac myosin binding protein C mutation in the Maine Coon cat with familial hypertrophic cardiomyopathy. Hum Mol Genet, 14:3587-3593

RICH, L. D. (1956): The Coast of Maine. New York, Thomas Y. Crowell Co.

STANISLOW, S. (1985): "The Maine Coon Cat." CFA Yearbook, pp. 520-523.

SZINÁK J. – VERESS I. (1989): Macskakalauz Budapest 124-125p

TAYLOR, D. (1992): Arany macskakönyv Corvina 74-75p

YOUNG, M.-TOME R. (1991): "The Maine Coon Cat: More Than a Long Tail." Cat Fanciers Almanac, Feb.

WESS G, SCHINNER C, WEBER K, KÜCHENHOFF H, HARTMANN K (2010): Association of A31P and A74T polymorphisms in the myosin binding protein C3 gene and hypertrophic cardiomyopathy in Maine Coon and other breed cats. J Vet Intern Med. 2010 May-Jun;24(3):527-32

Internetes hivatkozások

http://maxshouse.com/Cardiology/myocardial_diseases_of_the_cat.htm, 2011.10.17.

<http://www.famkat.hu/orvos/heart.htm>, 2011.10.10.

http://www.time.com/time/specials/packages/article/0,28804,1884779_1884782_1884766,00.html, 2011.10.25.

<http://www.ukbiobank.ac.uk/>, 2011.10.25.

<http://www.decode.com/>, 2011.10.25.

<http://www.gen-au.at/projekt.jsp?projektId=34&lang=en>, 2011.10.25.

<http://www.biobanks.se/>, <http://epic.iarc.fr/centers/iarc.php>, 2011.10.25

<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MYBPC3>, 2011.10.19.

http://en.wikipedia.org/wiki/Myosin_binding_protein_C,_cardiac, 2011.10.25.

<http://www.macskaegyesulet.hu/szabalyzatok/ems-kodok#fajtakod>, 2011.10.25

<http://www.rvc.ac.uk/act/RVCResearch.cfm>, 2011.10.25.

<http://www.mainecoons.eoldal.hu/cikkek/a-maine-coon.html>, 2011.10.17.

http://macskak_dormi.mindenkilapja.hu/html/19300962/render/macskafajtak, 2011.10.17.

<http://hu.wikipedia.org/wiki/Taurin>, 2011.10.15.

<http://allatmania.hu/angelis-coons-cherry-cherry->, 2011.10.10.

7.2. FÜGGELÉK

7-2-1. GENETIKAI KUTATÁS BELEEGYEZŐ NYILATKOZATA

Belső azonosító: MC____/2011

“Magyar Maine Coon állomány genetikai egészségmegőrzésének kialakítása” című kutatáshoz

Alulírott..... kijelentem, hogy önkéntesen vállalkozom arra, hogy a tulajdonomban lévő nevű Maine Coon biológiai mintáját a **NAGY GÉN** Diagnosztikai és Kutatási Kft. laboratóriumában tárolják, és a tárolt DNS-ből genetikai vizsgálatot végezzenek. Tudomásul veszem, hogy a beleegyező nyilatkozatomat bármikor visszavonhatom, a tulajdonomban lévő macska DNS-ét írásbeli kérésemre megsemmisítik. A Laboratórium fenntartásában részt vevő szakemberek gondoskodnak róla, hogy ezt az anyagot csak a velem közölt tudományos vizsgálat céljára használják fel. Saját adataimról és arról, hogy a vizsgálatban részt veszünk, akaratomon kívül senkit nem tudatnak.

..... (hely),(dátum)

.....

Tulajdonos aláírása

1. tanú

.....(név)

.....(cím)

7.-2-2. GENETIKAI KUTATÁS BELEEGYZŐ NYILATKOZATA

Belső azonosító: MC_____/2011

“Magyar Maine Coon állomány genetikai egészségmegőrzésének kialakítása”című kutatáshoz

Tisztelt Hölgyem/Uram!

A magyar Maine Coon fajtára jellemző örökletes betegségek szűrése alapvető fontosságú a fajta rövid- és hosszútávú védelmében. Napjainkban egyre több tudományos próbálkozás történik a macska örökítőanyag alaposabb megismerésére.

A vizsgálat menete:

A DNS tárolásához és a génvizsgálat elvégzéséhez sejtekre van szükség a kutatásba bevont állatból. A szájnyalkahártya-minta levétele semmilyen szakértelmet sem igényel, bárhol elvégezhető. A mintavételi tájékoztatóban tájékozódhatnak a mintavétel pontos menetéről.

Kockázatok, kellemetlenségek:

A szájnyalkahártya-mintavétel semmilyen kockázattal nem jár, sebzést nem okoz, fájdalommentes.

A vizsgálat előnyei:

Önnek személyesen előnye származik abból, hogy a tulajdonában lévő macskát bevonja a kutatásba. A vizsgálat eredményei hozzájárulhatnak a hazai Maine Coon fajta védelméhez. Ön dönt arról, hogy kívánja-e a tudni a genetikai vizsgálatának az eredményét.

Titkosság:

Az Ön személyazonosságát és részvételét a vizsgálatban a **NAGY GÉN Kft.** szigorúan bizalmasan kezelik. Amennyiben másképp nem rendelkezik, csak a vizsgálatot irányító Dr. Nagy Zsolt fér hozzá. Önt kódszám szerint azonosítják. Az Ön kódszámát a lap tetején olvashatja.

Részvétel:

Ön teljesen önkéntesen dönt arról, hogy részt kíván-e venni ebben a kutatásban. Részvétele esetén alá kell írnia a beleegyező nyilatkozatot. Beleegyezését bármikor visszavonhatja anélkül, hogy ellátásának minősége károsodna, vagy Önt bármilyen más hátrány érné.

A macska tulajdonosának a nyilatkozata:

Ennek a nyilatkozatnak az aláírásával én (tulajdonos neve) elismerem, hogy tájékoztattak a vizsgálatról, a kockázatokról, kellemetlenségekről és előnyökről, amelyek a vizsgálat során előfordulhatnak. Kijelentem, hogy a tulajdonomban lévő Maine Coon törzskönyvi lapjának másolatát a biológiai mintával együtt eljuttatom a kutatás vezetőjének. Igazolom, hogy elegendő idő állt rendelkezésemre, hogy a fenti információk elolvasásához és megértéséhez.

Megerősítem, hogy a leírásban használt technikai nyelvezetet elmagyarázták nekem és kérdéseimre választ kaptam. Igazolom azt is, hogy a beleegyező nyilatkozat egy példányát részemre átadták. Megértettem, hogy bármikor szabadon visszavonhatom a beleegyezésemet anélkül, hogy annak bármikor számomra előnytelen következményei lennének.

Szabadon, fenntartások nélkül egyezem bele abba, hogy a klinikai vizsgálatban részt veszek.

.....

A tulajdonos neve

.....

A tulajdonos aláírása

Dátum:

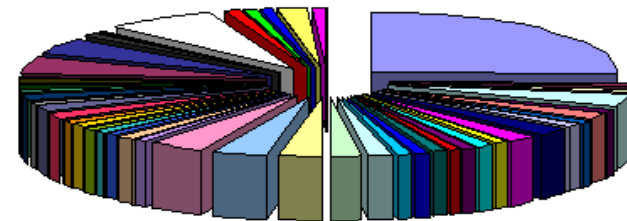
7-2-3. GENETIKAI KUTATÁSI ADATLAP

“Magyar Maine Coon állomány genetikai egészségmegőrzésének kialakítása”

Belső azonosító: MC /2011	Dátum:
Állat neve:	
Fajta: Maine Coon	
Törzskönyvi szám / Chip szám	
Születési hely, idő:	
Tulajdonos neve és címe:	
Tulajdonos elérhetősége:	@
Macska ivara:	
Testhossz:	
Súly:	
Szőrszín:	
Szemszín:	

Nőstény esetén: Vemhességek száma: Élve születek utódok száma: Halva született utódok száma: Első vemhesség: Hány pároztatásból sikerült az első vemhesség:		
Törzskönyvi másolatot csatoltam az adatlaphoz:	IGEN	NEM
Biológiai mintavétel típusa:	szájnyálkahártya-mintavétel	vérvétel
Biológiai mintavétel helye, időpontja:		
Mintavételt végző személy neve:		
Aláírással igazolom, hogy a megadott adatok a valóságnak megfelelnek, a megnevezett genetikai vizsgálat elvégzésébe beleegyezem. _____ Tulajdonos aláírása		

7-2-4. függelék Születési hely (n=110)



7-2-5. ábra Függelék Magyarországi születési helyek megoszlása (n=87)



7.3. NYILATKOZAT

Alulírott, **Rzepiel Andrea** a Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Állattenyésztő mérnök BSc. szak nappali/levelező tagozat hallgatója nyilatkozom, hogy a tudományos diákköri dolgozat saját munkám, melynek elkészítése során a felhasznált irodalmat korrekt módon, a jogi és etikai szabályok betartásával kezeltem. Hozzájárulok ahhoz, hogy a tudományos diákköri dolgozatom egyoldalas összefoglalója felkerüljön a Kar /Intézet/Szak honlapjára.

A tudományos diákköri dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem.

Gödöllő, 2011. november

.....

hallgató aláírása

A dolgozat készítőjének konzulense nyilatkozom arról, hogy a tudományos diákköri dolgozatot áttekintettem, a felhasznált irodalmat a hallgató korrekt módon, a jogi és etikai szabályok betartásával kezelte.

A tudományos diákköri dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem.

Gödöllő, 2011. november 2.

.....

témavezető aláírása

7.4. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni témavezetőimnek dr. Horvainé dr. Szabó Mária egyetemi docensnek (Szent István Egyetem, Mezőgazdasági és Környezettudományi kar, ÁSBHTT) és Dr. Nagy Zsolt ügyvezetőnek (NAGY GÉN Diagnosztikai és Kutatási Kft.) a szakmai és emberi segítséget, amellyel hozzájárultak ahhoz, hogy elkészüljön a dolgozatom.