

Algemene conclusies

Over de tien onderzochte rassen heen werden 46 DNA-testen uitgevoerd. Hierbij beschouwen we de test voor dezelfde mutatie uitgevoerd bij verschillende rassen als aparte testen. Bij 25 van deze DNA-testen werd geen enkel mutant allel aangetroffen in het onderzochte ras wat aangeeft dat de frequentie van de aandoening heel laag is en dat routinematige genotypering voor deze mutaties/aandoeningen in het betreffende ras geen zin heeft. Opvallend hierbij is dat alle onderzochte X-chromosoom gebonden mutaties (6) hieronder vallen. Een mogelijke verklaring hiervoor is fenotypische selectie op populaire reuen (hebben slechts 1 X-chromosoom) die vrij zijn voor dit soort aandoeningen. Een andere mogelijke verklaring is dat de betreffende aandoening (heel) zeldzaam was/is en slechts in bepaalde lijnen aanwezig was/is. Bepaalde aandoeningen en bijhorende mutaties werden slechts één keer beschreven en deze mutaties komen mogelijk enkel voor in de door de desbetreffende auteurs onderzochte populatie. Dit is wellicht ook geldig voor een aantal van de autosomale aandoeningen waarvoor de mutatie niet werd aangetroffen en waarover weinig informatie beschikbaar is in de internationale wetenschappelijke literatuur. Dit mag echter niet zomaar veralgemeend worden en een studie zoals door ons uitgevoerd is aangewezen om uitsluitel te brengen.

De resultaten verkregen voor de Mechelse herder geven aan dat het evalueren van de DNA-testen oorspronkelijk ontwikkeld voor de Duitse herder nuttig is. Twee van de vijf onderzochte mutaties werden bij de Mechelse herder aangetroffen. Dat is evenveel als bij de Duitse herder zelf. Opvallend hierbij is dat één van de mutaties (HUU) in onze studie bij de Mechelse herder werd aangetroffen en niet bij de Duitse herder terwijl ze oorspronkelijk bij die laatste werd aangetroffen. De bevindingen gedaan voor de Mechelse herder kunnen geëxtrapoleerd worden naar andere (nauw) verwante rassen. Zo zou het interessant en raadzaam zijn om de mutaties gevonden bij de Duitse herder ook te onderzoeken bij bijvoorbeeld de Groenendaeler, Lakense herder, Tervuurse herder, witte Canadese herder en eventueel zelfs het schipperke, rassen die wegens hun beperkte(re) omvang veel minder bestudeerd worden en waarvoor specifiek geen of heel weinig DNA-testen beschikbaar zijn.

Globaal genomen is de situatie voor de onderzochte aandoeningen vrij gunstig. De belangrijkste aandachtspunten werden aangestipt bij het fokadvies voor elk van de rassen. Opvallend hierbij, maar niet echt verrassend, is dat algemeen genomen de hoogste frequenties worden aangetroffen bij oogaandoeningen. Bij een aantal van deze oogaandoeningen treden de symptomen laat of relatief laat op en andere zoals cataract worden, wellicht onterecht, als niet echt problematisch beschouwd. Het gevolg in beide gevallen is dat geen doorgedreven selectie op de aandoeningen werd gevoerd. Een vergelijkbaar fenomeen doet zich voor bij MDR1 en MTC, wat op zich geen aandoeningen zijn maar waarbij de verantwoordelijke mutaties wel voor problemen kunnen zorgen bij toediening van bepaalde medicaties.

Afsluitend kunnen we stellen dat het nut van DNA-testen wordt aangetoond door de resultaten bekomen voor de Ierse setter. Door doordacht gebruikt te maken van DNA-testen werd de frequentie van de mutaties verantwoordelijk voor CLAD en RCD1 tot een verwaarloosbaar niveau teruggebracht.

Referenties

Aguirre, G.D., Baldwin, V., Weeks, K.M., Acland, G.M., Ray, K.: Frequency of the codon 807 mutation in the cGMP phosphodiesterase beta-subunit gene in Irish setters and other dog breeds with hereditary retinal degeneration. *Journal of Heredity* 90:143-147, 1999.

Awano, T., Johnson, G.S., Wade, C.M., Katz, M.L., Johnson, G.C., Taylor, J.F., Perloski, M., Biagi, T., Baranowska, I., Long, S., March, P.A., Olby, N.J., Shelton, G.D., Khan, S., O'Brien, D.P., Lindblad-Toh, K., Coates, J.R.: Genome-wide association analysis reveals a SOD1 mutation in canine degenerative myelopathy that resembles amyotrophic lateral sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:2794-9, 2009.

Bannasch, D., Safra, N., Young, A., Karmi, N., Schaible, R.S., Ling, G.V.: Mutations in the SLC2A9 gene cause hyperuricosuria and hyperuricemia in the dog. *PLoS Genet* 4:e1000246, 2008.

Baranowska, I., Jäderlund, K.H., Nennesmo, I., Holmqvist, E., Heidrich, N., Larsson, N.G., Andersson, G., Wagner, E.G., Hedhammar, A., Wibom, R., Andersson, L.: Sensory ataxic neuropathy in golden retriever dogs is caused by a deletion in the mitochondrial tRNATyr gene. *PLoS Genet* 5:e1000499, 2009.

Beggs, A.H., Böhm, J., Snead, E., Kozłowski, M., Maurer, M., Minor, K., Childers, M.K., Taylor, S.M., Hitte, C., Mickelson, J.R., Guo, L.T., Mizisin, A.P., Buj-Bello, A., Turet, L., Laporte, J., Shelton, G.D.: MTM1 mutation associated with X-linked myotubular myopathy in Labrador Retrievers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:14697-702, 2010.

Benson, K.F., Li, F.Q., Person, R.E., Albani, D., Duan, Z., Wechsler, J., Meade-White, K., Williams, K., Acland, G.M., Niemeyer, G., Lothrop, C.D., Horwitz, M.: Mutations associated with neutropenia in dogs and humans disrupt intracellular transport of neutrophil elastase. *Nature Genetics* 35:90-6, 2003.

Broeckx, B.J., Coopman, F., Verhoeven, G.E., Van Haeringen, W., van de Goor, L., Bosmans, T., Gielen, I., Saunders, J.H., Soetaert, S.S., Van Bree, H., Van Neste, C., Van Nieuwerburgh, F., Van Ryssen, B., Verelst, E., Van Steendam, K., Deforce, D.: The prevalence of nine genetic disorders in a dog population from Belgium, the Netherlands and Germany. *PLoS One* 8:e74811, 2013.

Campbell, B.G., Wootton, J.A.M., MacLeod, J.N., Minor, R.R.: Sequence of normal canine COL1A1 cDNA and identification of a heterozygous alpha 1(I) collagen Gly208Ala mutation in a severe case of canine osteogenesis imperfecta. *Archives of Biochemistry & Biophysics* 384:37-46, 2000.

- Campbell, B.G., Wootton, J.A.M., Macleod, J.N., Minor, R.R.: Canine COL1A2 mutation resulting in C-terminal truncation of pro-alpha 2(I) and severe osteogenesis imperfect. *Journal of Bone & Mineral Research* 16:1147-1153, 2001.
- Casal, M.L., Scheidt, J.L., Rhodes, J.L., Henthorn, P.S., Werner, P.: Mutation identification in a canine model of X-linked ectodermal dysplasia. *Mamm Genome* 16:524-31, 2005.
- Chang, H.S., Kamishina, H., Mizukami, K., Momoi, Y., Katayama, M., Rahman, M.M., Uddin, M.M., Yabuki, A., Kohyama, M., Yamato, O.: Genotyping Assays for the Canine Degenerative Myelopathy-Associated c.118G>A (p.E40K) Mutation of the SOD1 Gene Using Conventional and Real-Time PCR Methods: A High Prevalence in the Pembroke Welsh Corgi Breed in Japan. *J Vet Med Sci* :, 2013.
- Davis, B., Toivio-Kinnucan, M., Schuller, S., Boudreaux, M.K.: Mutation in beta1-tubulin correlates with macrothrombocytopenia in Cavalier King Charles Spaniels. *J Vet Intern Med* 22:540-5, 2008.
- Downs, L.M., Wallin-Håkansson, B., Boursnell, M., Marklund, S., Hedhammar, Å., Truvé, K., Hübinette, L., Lindblad-Toh, K., Bergström, T., Mellersh, C.S.: A frameshift mutation in golden retriever dogs with progressive retinal atrophy endorses SLC4A3 as a candidate gene for human retinal degenerations. *PLoS One* 6:e21452, 2011.
- Downs, L.M., Bell, J.S., Freeman, J., Hartley, C., Hayward, L.J., Mellersh, C.S.: Late-onset progressive retinal atrophy in the Gordon and Irish Setter breeds is associated with a frameshift mutation in C2orf71. *Anim Genet* 44:169-77, 2013.
- Farias, F.H., Johnson, G.S., Taylor, J.F., Giuliano, E., Katz, M.L., Sanders, D.N., Schnabel, R.D., McKay, S.D., Khan, S., Gharahkhani, P., O'Leary, C.A., Pettitt, L., Forman, O.P., Boursnell, M., McLaughlin, B., Ahonen, S., Lohi, H., Hernandez-Merino, E., Gould, D.J., Sargan, D., Mellersh, C.S.: An ADAMTS17 Splice Donor Site Mutation in Dogs with Primary Lens Luxation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* :, 2010.
- Fouremant, P., Whiteley, M., Giger, U.: Canine leukocyte adhesion deficiency: Presence of the Cys36Ser beta-2 integrin mutation in an affected US Irish Setter cross-breed dog and in US Irish Red and White Setters. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 16:518-523, 2002.
- Gentilini, F., Zambon, E., Gandini, G., Rosati, M., Spadari, A., Romagnoli, N., Turba, M.E., Gernone, F.: Frequency of the allelic variant of the PTPLA gene responsible for centronuclear myopathy in Labrador Retriever dogs as assessed in Italy. *J Vet Diagn Invest* 23:124-6, 2011.
- Geyer, J., Doring, B., Godoy, J.R., Leidolf, R., Moritz, A., Petzinger, E.: Frequency of the nt230 (del4) MDR1 mutation in Collies and related dog breeds in Germany. *J Vet Pharmacol Ther* 28:545-51, 2005.
- Gill, J.L., Tsai, K.L., Krey, C., Noorai, R.E., Vanbellinghen, J-F., Garosi, L.S., Shelton, G.D., Clark, L.A., Harvey, R.J.: A canine BCAN microdeletion associated with Episodic Falling Syndrome. *Neurobiology of Disease* :, 2011.

- Gould, D., Pettitt, L., McLaughlin, B., Holmes, N., Forman, O., Thomas, A., Ahonen, S., Lohi, H., O'Leary, C., Sargan, D., Mellersh, C.: ADAMTS17 mutation associated with primary lens luxation is widespread among breeds. *Vet Ophthalmol* 14:378-384, 2011.
- Gramer, I., Leidolf, R., Doring, B., Klintzsch, S., Kramer, EM., Yalcin, E., Petzinger, E., Geyer, J.: Breed distribution of the nt230(del4) MDR1 mutation in dogs. *Vet J* 189:67-71, 2011.
- He, Q., Madsen, M., Kilkenney, A., Gregory, B., Christensen, E.I., Vorum, H., Højrup, P., Schäffer, A.A., Kirkness, E.F., Tanner, S.M., de la Chapelle, A., Giger, U., Moestrup, S.K., Fyfe, J.C.: Amnionless function is required for cubilin brush-border expression and intrinsic factor-cobalamin (vitamin B12) absorption in vivo. *Blood* 106:1447-53, 2005.
- Jobling, A.I., Ryan, J., Augusteyn, R.C.: The frequency of the canine leukocyte adhesion deficiency (CLAD) allele within the Irish Setter population of Australia. *Aust Vet J* 81:763-5, 2003.
- Karmi, N., Brown, E.A., Hughes, S.S., Mclaughlin, B., Mellersh, C.S., Biourge, V., Bannasch, D.L.: Estimated frequency of the canine hyperuricosuria mutation in different dog breeds. *J Vet Intern Med* 24:1337-42, 2010.
- Katz, M.L., Farias, F.H., Sanders, D.N., Zeng, R., Khan, S., Johnson, G.S., O'Brien, DP.: A missense mutation in canine CLN6 in an Australian shepherd with neuronal ceroid lipofuscinosis. *J Biomed Biotechnol* 2011:198042, 2011.
- Kawabata, A., Momoi, Y., Inoue-Murayama, M., Iwasaki, T.: Canine *mdr1* gene mutation in Japan. *J Vet Med Sci* 67:1103-7, 2005.
- Kijas, J.M.H., Bauer, T.R., Gafvert, S., Marklund, S., Trowald-Wigh, G., Johannisson, A., Hedhammar, A., Binns, M., Juneja, R.K., Hickstein, D.D., Andersson, L.: A missense mutation in the beta-2 integrin gene (ITGB2) causes canine leukocyte adhesion deficiency. *Genomics* 61:101-107, 1999.
- Kijas, J.M.H., Juneja, R.K., Gafvert, S., Andersson, L.: Detection of the causal mutation for canine leukocyte adhesion deficiency (CLAD) using pyrosequencing. *Animal Genetics* 31:326-328, 2000.
- Lin, L., Faraco, J., Li, R., Kadotani, H., Rogers, W., Lin, X.Y., Qiu, X.H., de Jong, P.J., Nishino, S., Mignot, E.: The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. *Cell* 98:365-376, 1999.
- Lingaas, F., Comstock, K.E., Kirkness, E.F., Sørensen, A., Aarskaug, T., Hitte, C., Nickerson, M.L., Moe, L., Schmidt, L.S., Thomas, R., Breen, M., Galibert, F., Zbar, B., Ostrander, E.A.: A mutation in the canine BHD gene is associated with hereditary multifocal renal cystadenocarcinoma and nodular dermatofibrosis in the German Shepherd dog. *Hum Mol Genet* 12:3043-53, 2003.
- Lowe, JK., Kukekova, AV., Kirkness, EF., Langlois, MC., Aguirre, GD., Acland, GM., Ostrander, EA.: Linkage mapping of the primary disease locus for collie eye anomaly. *Genomics* 82:86-95, 2003.
- Maurer, M., Mary, J., Guillaud, L., Fender, M., Pelé, M., Bilzer, T., Olby, N., Penderis, J., Shelton, G.D., Panthier, J.J., Thibaud, J.L., Barthélémy, I., Aubin-Houzelstein, G., Blot, S., Hitte, C., Tiret, L.:

Centronuclear myopathy in Labrador retrievers: a recent founder mutation in the PTPLA gene has rapidly disseminated worldwide. *PLoS One* 7:e46408, 2012.

Mealey, K.L., Bentjen, S.A., Gay, J.M., Cantor, G.H.: Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *mdr1* gene. *Pharmacogenetics* 11:727-33, 2001.

Mealey, K.L., Munyard, K.A., Bentjen, S.A.: Frequency of the mutant MDR1 allele associated with multidrug sensitivity in a sample of herding breed dogs living in Australia. *Vet Parasitol* 131:193-6, 2005.

Mealey, K.L., Meurs, K.M.: Breed distribution of the ABCB1-1Delta (multidrug sensitivity) polymorphism among dogs undergoing ABCB1 genotyping. *J Am Vet Med Assoc* 233:921-4, 2008.

Mellersh, C.S., Pettitt, L., Forman, O.P., Vaudin, M., Barnett, K.C.: Identification of mutations in HSF4 in dogs of three different breeds with hereditary cataracts. *Vet Ophthalmol* 9:369-78, 2006.

Mellersh, C.S., McLaughlin, B., Ahonen, S., Pettitt, L., Lohi, H., Barnett, K.C.: Mutation in HSF4 is associated with hereditary cataract in the Australian Shepherd. *Vet Ophthalmol* 12:372-8, 2009.

Melville, S.A., Wilson, C.L., Chiang, C.S., Studdert, V.P., Lingaas, F., Wilton, A.N.: A mutation in canine CLN5 causes neuronal ceroid lipofuscinosis in Border collie dogs. *Genomics* 86:287-94, 2005.

Meurs, K.M., Mauceli, E., Lahmers, S., Acland, G.M., White, S.N., Lindblad-Toh, K.: Genome-wide association identifies a deletion in the 3' untranslated region of Striatin in a canine model of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Hum Genet* 128:315-24, 2010.

Meurs, K.M., Stern, J.A., Sisson, D.D., Kittleson, M.D., Cunningham, S.M., Ames, M.K., Atkins, C.E., Defrancesco, T., Hodge, T.E., Keene, B.W., Reina Doreste, Y., Leuthy, M., Motsinger-Reif, A.A., Tou, S.P.: Association of Dilated Cardiomyopathy with the Striatin Mutation Genotype in Boxer Dogs. *J Vet Intern Med* 27:1437-1440, 2013.

Minor, K.M., Patterson, E.E., Keating, M.K., Gross, S.D., Ekenstedt, K.J., Taylor, S.M., Mickelson, J.R.: Presence and impact of the exercise-induced collapse associated DNMI mutation in Labrador retrievers and other breeds. *Vet J* 189:214-219, 2011.

Mizukami, K., Kawamichi, T., Koie, H., Tamura, S., Matsunaga, S., Imamoto, S., Saito, M., Hasegawa, D., Matsuki, N., Tamahara, S., Sato, S., Yabuki, A., Chang, H.S., Yamato, O.: Novel rapid genotyping assays for neuronal ceroid lipofuscinosis in Border Collie dogs and high frequency of the mutant allele in Japan. *J Vet Diagn Invest* 23:1131-9, 2011.

Mizukami, K., Kawamichi, T., Koie, H., Tamura, S., Matsunaga, S., Imamoto, S., Saito, M., Hasegawa, D., Matsuki, N., Tamahara, S., Sato, S., Yabuki, A., Chang, H.S., Yamato, O.: Neuronal ceroid lipofuscinosis in Border Collie dogs in Japan: clinical and molecular epidemiological study (2000-2011). *Scientific World Journal* 2012:383174, 2012a.

Mizukami, K., Chang, H.S., Yabuki, A., Kawamichi, T., Hossain, M.A., Rahman, M.M., Uddin, M.M., Yamato, O.: Rapid genotyping assays for the 4-base pair deletion of canine MDR1/ABCB1

gene and low frequency of the mutant allele in Border Collie dogs. *J Vet Diagn Invest* 24:127-34, 2012b.

Neff, M.W., Robertson, K.R., Wong, A.K., Safra, N., Broman, K.W., Slatkin, M., Mealey, K.L., Pedersen, N.C.: Breed distribution and history of canine *mdr1-1Delta*, a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breeds from the collie lineage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:11725-30, 2004.

Owczarek-Lipska, M., Jagannathan, V., Drögemüller, C., Lutz, S., Glanemann, B., Leeb, T., Kook, P.H.: A Frameshift Mutation in the Cubilin Gene (CUBN) in Border Collies with Imerslund-Gräsbeck Syndrome (Selective Cobalamin Malabsorption). *PLoS One* 8:e61144, 2013.

Parker, H.G., Kukekova, A.V., Akey, D.T., Goldstein, O., Kirkness, E.F., Baysac, K.C., Mosher, D.S., Aguirre, G.D., Acland, G.M., Ostrander, E.A.: Breed relationships facilitate fine-mapping studies: a 7.8-kb deletion cosegregates with Collie eye anomaly across multiple dog breeds. *Genome Res* 17:1562-71, 2007.

Patterson, E.E., Minor, K.M., Tchernatynskaia, A.V., Taylor, S.M., Shelton, G.D., Ekenstedt, K.J., Mickelson, J.R.: A canine DNMT1 mutation is highly associated with the syndrome of exercise-induced collapse. *Nat Genet* 40:1235-9, 2008.

Pelé, M., Tired, L., Kessler, J.L., Blot, S., Panthier, J.J.: SINE exonic insertion in the PTPLA gene leads to multiple splicing defects and segregates with the autosomal recessive centronuclear myopathy in dogs. *Hum Mol Genet* 14:1417-27, 2005.

Pfeiffer, I., Brenig, B.: Frequency of the canine leucocyte adhesion deficiency (CLAD) mutation among Irish red setters in Germany. *J Anim Breed Genet* 122:140-2, 2005.

Ray, J., Bouvet, A., Desanto, C., Fyfe, J.C., Xu, D.B., Wolfe, J.H., Aguirre, G.D., Patterson, D.F., Haskins, M.E., Henthorn, P.S.: Cloning of the canine beta-glucuronidase cDNA, mutation identification in canine MPS VII, and retroviral vector-mediated correction of MPS VII cells. *Genomics* 48:248-253, 1998.

Owczarek-Lipska, M., Thomas, A., André, C., Hölzer, S., Leeb, T.: Frequency of gene defects in selected European retriever populations. *Schweiz Arch Tierheilkd* 153:418-20, 2011.

Sharp, N.J.H., Kornegay, J.N., Vancamp, S.D., Herbstreith, M.H., Secore, S.L., Kettle, S., Hung, W.Y., Constantinou, C.D., Dykstra, M.J., Roses, A.D., Bartlett, R.J.: An Error in Dystrophin Messenger RNA Processing in Golden Retriever Muscular Dystrophy, an Animal Homologue of Duchenne Muscular Dystrophy. *Genomics* 13:115-121, 1992.

Suber, M.L., Pittler, S.J., Qin, N., Wright, G.C., Holcombe, V., Lee, R.H., Craft, C.M., Lolley, R.N., Baehr, W., Hurwitz, R.L.: Irish Setter Dogs Affected with Rod/Cone Dysplasia Contain a Nonsense Mutation in the Rod cGMP Phosphodiesterase beta- Subunit Gene. *PNAS* 90:3968-3972, 1993.

Tappin, S.W., Goodfellow, M.R., Peters, I.R., Day, M.J., Hall, E.J., Mealey, K.L.: Frequency of the mutant MDR1 allele in dogs in the UK. *Vet Rec* 171:72, 2012.

Tsai, K.L., Noorai, R.E., Starr-Moss, A.N., Quignon, P., Rinz, C.J., Ostrander, E.A., Steiner, J.M., Murphy, K.E., Clark, L.A.: Genome-wide association studies for multiple diseases of the German Shepherd Dog. *Mamm Genome* 23:203-11, 2012.

Walmsley, G.L., Arechavala-Gomez, V., Fernandez-Fuente, M., Burke, M.M., Nagel, N., Holder, A., Stanley, R., Chandler, K., Marks, S.L., Muntoni, F., Shelton, G.D., Piercy, R.J.: A duchenne muscular dystrophy gene hot spot mutation in dystrophin-deficient cavalier king charles spaniels is amenable to exon 51 skipping. *PLoS One* 5:e8647, 2010.

Walser-Reinhardt, L., Hässig, M., Spiess, B.: Collie Eye Anomaly in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilkd* 151:597-603, 2009.

Winand, N.J.: Molecular genetic characterization of spontaneously occurring animal models of Duchenne muscular dystrophy. PhD dissertation, chapter 4, 1994.

Zangerl, B., Goldstein, O., Philp, A.R., Lindauer, S.J., Pearce-Kelling, S.E., Mullins, R.F., Graphodatsky, A.S., Ripoll, D., Felix, J.S., Stone, E.M., Acland, G.M., Aguirre, G.D.: Identical mutation in a novel retinal gene causes progressive rod-cone degeneration in dogs and retinitis pigmentosa in humans. *Genomics* 88: 551-63, 2006.