

## Border collie

Voor de border collie werden 6 DNA testen beschikbaar in het publiek domein uitgevoerd. Het betreft de aandoeningen collie eye anomalie (CEA), cyclische neutropenie (CN), Imerslund-Gräsbeck syndroom (IGS), multidrug resistance 1 (MDR1), neuronale ceroid lipofuscinosis 5 (NCL5) en primaire lensluxatie (PLL). De DNA-test voor IGS werd pas recent beschreven en was net als de test voor PLL niet opgenomen in het projectvoorstel. De DNA-test voor PLL werd oorspronkelijk beschreven voor terriërs, maar er waren aanwijzingen dat ze ook zou voorkomen bij de border collie. Vandaar dat we besloten om deze test ook op te nemen in de studie. Voor elk van de aandoeningen wordt vermeld hoeveel dieren (n) werden getest.

Genotypering van de 1-bp insertie ([GenBank:NC\_006585.3] nt 28663129-30: -/A) in het *AP3B1* gen die aanleiding geeft tot CN (Benson et al., 2003), de c.8392delC mutatie in *CUBN* die aanleiding geeft tot IGS (Owczarek-Lipska et al., 2013), de mutatie ([GenBank:NC\_006604.3] nt 30574637: C/T) in *CLN5* die aanleiding geeft tot NCL5 (Melville et al., 2005) en de mutatie ([GenBank:NC\_006585.3] nt 40782144: G/A) in *ADAMST17* die aanleiding geeft tot PLL (Farias et al., 2010) gebeurde via PCR gevolgd door sequentiebepaling. Genotypering van de 4-bp deletie ([GenBank:NC\_006596.3] nt 13726594-7 ic: ATAG/----) in het *ABCBI* gen die aanleiding geeft tot MDR1 (Mealey et al., 2001) gebeurde via een TaqMan assay en genotypering van de 7,8-kb deletie (28,697,542-28,705,340 op chr 37 van de CanFam2 assembly) in *NHEJ1* die aanleiding geeft tot CEA (Parker et al., 2007) gebeurde via PCR gevolgd door gelelektroforese.

**Samenvattende tabel resultaten border collie.** *Wt = wild type of het normale allel. Mut = het mutante, ziekteverwekkende allel. Wt/Mut dieren zijn heterozygote dragers. Voor recessieve aandoeningen zijn ze zelf niet aangetast, maar ze geven de mutatie door aan 50% van hun nakomelingen.*

Frequentie %	CEA	CN	IGS	MDR1	NCL5	PLL
Wt/Wt	83,2	100,0	95,7	98,9	100,0	100,0
Wt/Mut	15,8	0,0	4,3	1,1	0,0	0,0
Mut/Mut	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Wt	91,1	100,0	97,9	99,5	100,0	100,0
Mut	8,9	0,0	2,1	0,5	0,0	0,0

**Collie eye anomalie (CEA)** is een autosomaal recessief overervende oogaandoening die wordt veroorzaakt door een deletiemutatie in intron 4 van het *NHEJ1* gen (Parker et al., 2007). De frequentie van het mutant allel in de door ons onderzochte Belgische border collie populatie is 8,9% (n = 95) waarbij 1,1% aangetaste dieren (mut/mut; 1/95) en 15,8% dragers (wt/mut; 15/95) werden aangetroffen. In een retrospectieve studie over de periode 1999-2007

werd de frequentie van aangetaste border collies in Zwitserland geschat op 0,7% (Walser-Reinhardt et al., 2009). Dit is vergelijkbaar met de 1,1% die wij via genotypering hebben aangetroffen. Daar het Zwitserse onderzoek is gebaseerd op (fenotypisch) oogonderzoek werd de frequentie van dragers niet bepaald (Walser-Reinhardt et al., 2009). In een oudere studie (Bedford PG, 1982 gerefereerd in Lowe et al., 2003) werd de prevalentie van CEA in border collies geschat op 2 à 3 % in de USA en het VK.

**Cyclische neutropenie (CN; cyclische hemaetopoesis, grijze collie syndroom)** is een autosomaal recessief overervende aandoening die wordt veroorzaakt door een mutatie in het *AP3B1* gen (Benson et al., 2003). Er zijn in de internationale wetenschappelijke literatuur geen frequentiegegevens beschikbaar over de aandoening in andere landen. Aangezien de mutatie niet werd aangetroffen in onze studie kan worden aangenomen dat de aandoening in de Belgische border collie populatie (heel) zeldzaam is.

**Imerslund-Gräsbeck syndroom (IGS)** (Intestinale cobalamine (vitamine B12) malabsorptie; selectieve cobalamine malabsorptie; megaloblastische anemie 1 (MGA1)) is een autosomaal recessieve aandoening die bij de border collie wordt veroorzaakt door een mutatie in het *CUBN* gen dat codeert voor cubiline, een van de twee onderdelen van het cubameiwitcomplex aanwezig in de membraan van intestinale cellen en verantwoordelijk voor de opname van het vitamine B12-GIF (gastric intrinsic factor) complex (Owczarek-Lipska et al., 2013). Het tweede onderdeel van cubam is het eiwit amnionless dat wordt gecodeerd door het *AMN* gen. Mutaties in *AMN* zijn verantwoordelijk voor IGS in de Australische herder (zie daar) en de reuzen schnauzer (He et al., 2005).

De frequentie van het mutante *CUBN* allel in onze studie is 2,1%. Er werden 4 dragers gevonden op 94 geteste dieren of een frequentie van 4,3%. Dit is in de lijn met wat Owczarek-Lipska en collega's (2013) in hun recente studie vonden, namelijk 6,2% dragers. Deze frequentie werd bepaald op ongeveer 200 willekeurig gekozen dieren, maar nadere gegevens over de herkomst van de dieren werd niet gegeven. Er werden nog geen andere frequentiebepalingen in de wetenschappelijke literatuur beschreven.

**Multidrug resistance 1 (MDR1)** is een partieel dominant kenmerk dat wordt veroorzaakt door een deletiemutatie in het *ABCB1* gen (voorheen *MDR1* gen)(Mealey et al., 2001). MDR1 is geen ziekte maar homozygoot mutante dieren hebben een sterk verhoogde gevoeligheid voor meerdere geneesmiddelen en vertonen neurotoxische verschijnselen waarvan de ernst afhangt van de mate van overdosering. Heterozygote dieren zijn ook meer gevoelig dan homozygoot normale dieren, maar in mindere mate dan de homozygoot mutante. Bepaling van het MDR1 genotype is dus belangrijk om overdosering van de betreffende geneesmiddelen te voorkomen.

De frequentie van het mutant allel in de door ons onderzochte Belgische border collie populatie is 0,5% (1 heterozygoot op 95 geteste dieren). Dit komt ongeveer overeen met de frequentie van het mutante *ABCB1* (*MDR1*) allel in de USA (Mealey, 2008) en Duitsland

(Gramer et al., 2011) die werd geschat op ongeveer 1%. In een Japanse studie werd de frequentie van heterozygoten geschat op 0,49% en die van homozygoten op 0,25% (Mizukami et al., 2012b). De frequentie lijkt dus wereldwijd in de border collie relatief laag, dit in tegenstelling met sommige andere rassen en meer specifiek met de collie waar de frequentie in sommige landen oploopt tot 75%.

**Neuronale ceroid lipofuscinosis 5 (NCL5)** is een autosomaal recessief overervende neurodegeneratieve aandoening veroorzaakt door een mutatie in het *CLN5* gen (Melville et al., 2005).

De mutatie verantwoordelijk voor NCL5 bij de border collie werd in onze studie niet aangetroffen (n = 95). In een studie uitgevoerd op border collies in Australië werd de frequentie van het mutant *CLN5* allel geschat op ongeveer 3,5% (Melville et al., 2005) op basis van ongeveer evenveel dieren (n = 86) als in onze studie. In dezelfde studie wordt aangegeven dat het mutant *CLN5* allel relatief wijd verspreid is in Australië door het veelvuldig inzetten van enkele kampioenen, die achteraf drager bleken van de mutatie. In een studie uitgevoerd op 403 border collies in Japan verzameld over de periode 2006-2011 werd de frequentie van het mutant *CLN5* allel op ongeveer 8,1% geschat (Mizukami et al., 2011). De auteurs wijzen als mogelijke oorzaak voor deze opvallend hoge frequentie naar het founder effect, wat in een navolgende studie werd bevestigd. In deze vervolgstudie werden de stambomen van aangetaste dieren en dragers over een periode van 2000 tot 2011 bestudeerd en zo kon de mutatie teruggevoerd worden naar enkele dieren geïmporteerd vanuit Australië (Mizukami et al., 2012a). Bovendien bleken deze dieren uit dezelfde lijn te komen, wat aanwijst dat de verantwoordelijke mutatie is ontstaan in een border collie in Australië. Bijgevolg is een mogelijke verklaring waarom de mutatie in onze studie niet werd aangetroffen dat geen dieren uit de Australische of Japanse lijnen in de Belgische border collie populatie werden ingekruist en dat de mutatie ook niet of aan een heel lage frequentie aanwezig is in de ons omringende landen. Daar hierover geen frequentiegegevens beschikbaar zijn kan dit (voorlopig) niet bevestigd worden. Om de mutatie niet te verspreiden in de Belgische populatie van de border collie wordt daarom aangeraden om geïmporteerde dieren te genotyperen voor de *CLN5* mutatie.

**Primaire lensluxatie (PLL)** is een autosomaal recessief overervende aandoening die wordt veroorzaakt door een mutatie in het *ADAMST17* gen (Farias et al., 2010). De mutatie werd oorspronkelijk aangetroffen in bull terriërs en Jack Russel terriërs maar nadien ook in een aantal andere rassen, voornamelijk terriërs (Gould et al., 2011). Er dient hierbij ook opgemerkt te worden dat de mutatie niet werd aangetroffen bij aangetaste dieren van onder andere de shar pei, Brittany spaniël en de border collie. Hieruit kan besloten worden dat PLL genetisch heterogeen is en dat verschillende mutaties aanwezig zijn in de hondenpopulatie. We besloten om de mutatie toch te testen in de border collie omdat in de studie van Gould en medewerkers (2011) slechts 1 aangetaste border collie werd getest en omdat de mutatie wel frequent (ongeveer 22%) voorkomt in de Lancashire heeler, een ras nauw verwant met de border collie (Gould et al., 2011; Parker et al., 2007). De mutatie werd echter niet in onze

studie aangetroffen. Dit wijst aan dat PLL in de border collie wordt veroorzaakt door een andere, nog niet beschreven mutatie.

### ***Fokadvies***

De geteste mutaties verantwoordelijk voor CN, NCL5 en PLL werden niet aangetroffen in onze studie. Het routinematig opnemen van deze DNA-testen in fokprogramma's heeft dan ook weinig zin. Een nuance dient wel gemaakt te worden voor NCL5. Zoals daar vermeld komt de mutatie in bepaalde landen wel (relatief) frequent voor en is het raadzaam om dieren die vanuit het buitenland worden geïmporteerd of worden gebruikt voor kruisingen wel te genotyperen voor de mutatie in het CLN5 gen. Dit voorbeeld toont ook heel goed aan dat voorzichtig moet omgesprongen worden met het extrapoleren van frequentiegegevens uit andere landen en lijnen en bewijst het nut van dit soort studies.

Gezien de relatief hoge frequentie aan CEA dragers (15,8%) is het aan te raden om de DNA-test op te nemen bij het opstellen van fokschema's om de frequentie geleidelijk aan te doen dalen. Hetzelfde kan overwogen voor IGS, hoewel de frequentie aan dragers hier reeds relatief laag is (4,3%). Beide testen kunnen eventueel gelijktijdig uitgevoerd worden.

Gezien de lage frequentie (0,5%) is genotypering van MDR1 bij de border collie enkel nuttig in lijnen/families waar er precedenten zijn of waar er klinische problemen gerelateerd aan de medicatie werden vastgesteld.