

# Moleculair-genetisch onderzoek en fokwaardeschatting

## in verband met idiopathische epilepsie bij de border collie in Duitsland

Zo luidt de titel van een onderzoeksproject vanuit de gelederen van de ABCD e.V. (Arbeitsgemeinschaft Border Collie Deutschland e.V) en gebaseerd op de bijzonder goed gedocumenteerde stamboekdata en -gegevens vanuit hun stamboek.

Deelnemers aan dit onderzoek zijn Gitte Anders als begeleidend dierenarts, prof. dr. dr. habil. Gerard Reiner op het gebied van fokkerij en genetica en PD dr. Martin Schmidt als neuroloog die beiden in de veterinaire geneeskunde aan de Justus-Liebig universiteit in Gießen doceren en onderzoek verrichten. Een grote rol spelen dr. Viola Hebel en Doris Brand als computerspecialiste, door beschikbaarstelling van hun ISDS stamboeken en als contactpersoon voor de ISDS.

### Waarom epilepsie?

Tot de rassen met primaire (idiopathische) epilepsie behoort juist de border collie. Het ras is een van de rassen die vaak aan een therapieresistente vorm van epilepsie lijdt die veelal gepaard gaat met een korte overlevingstijd. Het bewijs van overerving van epilepsie bij de border collie is reeds geleverd (Hülsmeier 2009). Tot dusver door neurologen uitgewerkt statistisch materiaal wijst uit dat het hierbij om een complexe, polygenetische multifactoriële overerving gaat. Statistische analyses tonen aan dat 90% van de door hen onderzochte honden aan erfelijke epilepsie lijden.

Het onderzoek bestaat uit 2 delen:

Fokwaardeschatting

Onderzoek van celmateriaal

### Hoe werkt vererving?

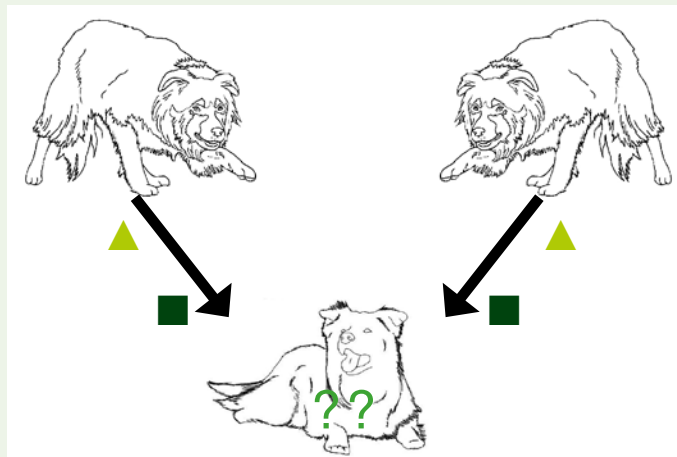
Dit is een korte herhaling van het artikel "Grondbeginselen van de toegepaste genetica voor de hondenfokkerij" van dr. Viola Hebel, die op de ABCD Website onder het thema "fokkerij" te vinden is en wier lectuur wij iedereen nog eens van harte aanbevelen.

Erfelijk materiaal, dat versleuteld als genen op het DNA ligt, leidt tot de ontwikkeling van alle lichaamseigen kenmerken en vormt dus een soort bouwplan van het lichaam. Elk gen komt 2 keer voor; 1 gen wordt door de moeder en 1 gen door de vader vererfd. Een gen kan in twee vormen voorkomen, men spreekt van twee allelen. Een dier kan twee keer hetzelfde (identieke) allel dragen en is dan homozygoot oftewel lijder of de hond draagt twee verschillende allelen van een gen en is dan heterozygoot oftewel drager. Wint 1 allel het van de andere dan is het eerste allel dominant, het tweede recessief. Is bijvoorbeeld één van de allelen een beschadigde mutant dan kan de gewenste eiwitstof niet worden gevormd. De hond heeft dan slechts de helft van de normale hoeveelheid (via het gezonde allel). De meeste kenmerken worden additief doorgegeven, d.w.z. dat het fenotype dan slechts half zo sterk is als bij homozygoot normale dieren. Volstaat de helft van de eiwitstof om het kenmerk volledig te vormen dan is het normale allel dominant; wordt het kenmerk daarentegen niet gevormd dan is het recessief. Een recessieve vererving ligt vaak ten grondslag aan allerlei ziektes, het recessieve allel is dan verantwoordelijk voor het ontstaan van de ziekte. Het probleem hierbij is dat dergelijke recessieve allelen zich onopgemerkt in de populatie kunnen uitbreiden omdat de werking van het dominante allel toch volstaat om het normale fenotype (product van erfelijke aanleg en van het beïnvloedend milieu) te vormen. Maar erft een dier het defecte, recessieve allel zowel van de vader als ook van de moeder verschijnt het zieke fenotype.

Bij een monogene (door één genetische factor bepaalde), recessieve overerving kan het erfgoed van de hond 3 verschillende kenmerken vertonen. De hond kan homozygoot zijn voor het dominante allel, dus vrij van of normaal. Hij kan ook twee verschillende allelen hebben, dus een dominant en een recessief allel en wordt dan drager of Carrier genoemd. En de hond kan homozygoot voor het recessieve allel zijn waarmee hij dus ziek zou zijn oftewel lijder (affected). Hierbij kan de ziekte dan uitbreken terwijl de honden met twee verschillende allelen zelf gezond zijn, het recessieve allel echter dragen en kunnen doorgeven.

Op onderstaande tekening wordt het dominante, sterkere allel, dat niet voor de ziekte verantwoordelijk is als groene driehoek afgebeeld, terwijl het recessieve allel als rode vierhoek wordt geschetst.

### Hoe werkt vererving?



Elke ouder geeft voor elk kenmerk genetisch materiaal door aan hun pups (voor in totaal ca. 100.000 kenmerken, waarvan 99,9 procent bij alle honden gelijk zijn). Elke hond heeft dus 2 pakketten met erfelijk materiaal, van elke ouder 1.

Dit is de overerving als een ziekte slechts door één gen wordt veroorzaakt. Bij epilepsie gaan wij echter van een polygene en multifactoriële overerving uit. Dat betekent dat naast omgevingsfactoren ook nog meerdere (= poly) genen bepalend zijn voor het ontstaan van de ziekte. Voor het zwakkere, recessieve allel moeten meerdere genen homozygoot zijn tot een van de drempelwaardes wordt overschreden en zich de ziekte zodoende ontwikkelt.

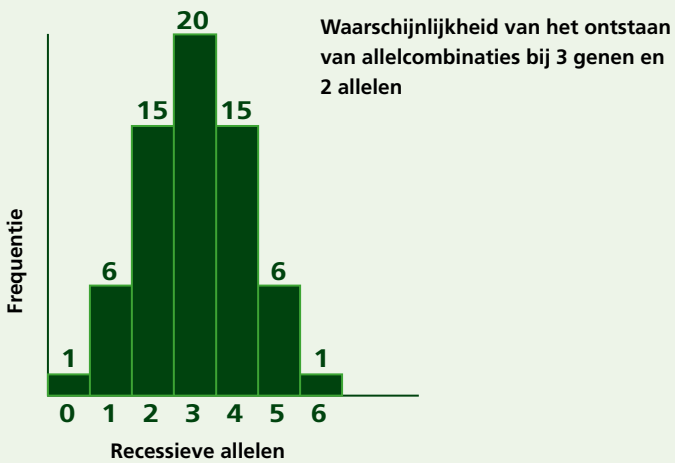
Veel verschillende genen, die oftewel in een dominante of een recessieve vorm aanwezig kunnen zijn, zijn verantwoordelijk. Bij HD bijvoorbeeld gaat men uit van 10.

Treffen voldoende recessieve genenparen op elkaar dan is de zogenaamde drempelwaarde overschreden en breekt de ziekte uit.



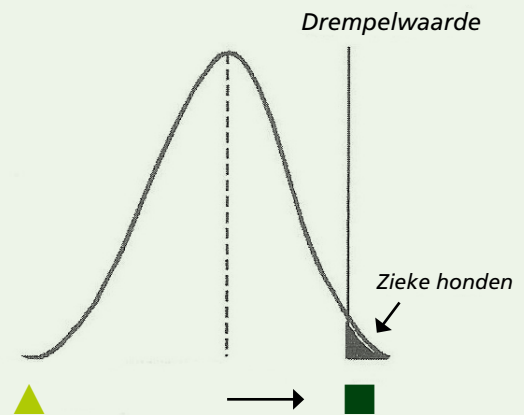


Was er bij een overerving met 1 gen nog sprake van 3 verschillende mogelijkheden, zo neemt de mogelijkheid om de genen te verdelen exponentieel toe ten opzichte van het aantal genen dat de karakteristieke kenmerken bepaalt.



Bij 10 genenparen zijn er 2 tot de macht 10 = 1024 verdelingsmogelijkheden voor elke ouder. Voor hun pups zijn er dan 1064x1064, dus meer dan 1 miljoen verschillende allelcombinaties mogelijk. Deze worden niet meer trapsgewijs maar in een curve weergegeven.

Verdeling van genetisch vrije, belaste en klinisch zieke honden bij een polygene, additieve vererving.



Helemaal links in de curve staan de honden die alleen "gezonde", dominante allelen hebben geërfd. Helemaal rechts in de curve zijn de honden te zien die genoeg recessieve allelen hebben geërfd om de drempelwaarde te overschrijden en dus ziek te worden. In procenten uitgedrukt betekent dit dat waarschijnlijk beide groepen, dus de honden met veelal homozygote, dominante en dus "gezonde"

allelen en de honden met teveel homozygote, recessieve allelen (beschadigd of defect) even vaak voorkomen. Uitgaande van een prevalentie van epilepsie van 2,8 % in onze hondenpopulatie zou dus ook maar geschatte 2,8% volledig homozygoot voor de dominante allelen zijn, dus vrij zijn van.

De rest van de populatie, bijna 95%, zou zodoende drager zijn van in meer of mindere mate aanwezige recessieve allelen.

Tot nu toe werd aanbevolen om geen dekkingen meer te doen met ouderdieren die epilepsie aan hun pups bleken te hebben doorgegeven. Het is verstandig om pas op latere leeftijd met honden te fokken om het risico dat de eigen hond aan een ziekte lijdt, zo veel mogelijk uit te kunnen sluiten. En er wordt aangeraden om geen dragers met elkaar te laten paren.

Maar wie is drager? En vooral, hoeveel genen draagt de hond precies? Uitgaande van slechts 2,8% epilepsievrije honden is het dus bijna onmogelijk om twee compleet vrije honden met elkaar te laten paren. En hier moet de fokwaardeschatting uitkomst bieden.

## Fokwaardeschatting

Kijken wij naar een hond waarmee wij fokken kunnen wij altijd slechts de uiterlijke kenmerken beoordelen, het product van de erfelijke aanleg, het fenotype. Zelfs een röntgenopname van een heup toont alleen de uiterlijke kenmerken, maar niet, wat in de genen van een hond verscholen zit en zodoende ook aan de pups doorgegeven kan worden. Hier biedt de fokwaardeschatting een instrument, om het genotype (erfelijke informatie in de genen) aan de hand van het fenotype, dus de uiterlijke kenmerken van een hond en zijn bloedverwanten in te kunnen schatten.

Een goed voorbeeld is een zwart/witte hond. Zwart/wit is dominant over driekleur. Van buitenaf ziet men bij een zwart/witte hond alleen zijn eigen kleur, zwart/wit dus. Maar die hond kan evengoed driekleurige pups voortbrengen als hij het recessieve gen in zich draagt. Is één van zijn ouders driekleurig dan kan met zekerheid vastgesteld worden dat de hond het gen voor driekleurigheid eveneens heeft. Maar als beide ouders zwart/wit zijn moet verder teruggekeken worden in zijn familie (zusters, grootouders enz.) om uit te kunnen rekenen, hoe hoog de waarschijnlijkheid is dat deze hond driekleurigheid zal doorgeven aan zijn nakomelingen.

Fokwaardeschatting is dus de berekening van een waarde, die het effect van zijn erfgoed op een kenmerk (epilepsie) beschrijft en waarmee het genotype m.b.v. het fenotype van een dier en zijn bloedverwanten ingeschat kan worden.

In de fokwaarde van een hond wordt informatie opgenomen over zijn ouders, broers en zussen en nakomelingen maar ook informatie van alle andere met de betreffende hond verwante dieren. De fokwaarden zijn om die reden dynamisch. Ook de fokwaarden van familie van de hond veranderen door nieuwe informatie. Om de fokwaarden gemakkelijker te kunnen gebruiken worden zij in relatieve fokwaarden omgezet. Een overerving die overeenkomt met de gemiddeld aanwezige raskenmerken wordt gelijkgesteld met de waarde 100. Kan ervan uitgegaan worden dat een bepaald kenmerk bij een hond versterkt naar boven komt dan ligt de fokwaarde boven de 100 en omgekeerd. Wil men het kenmerk epilepsie selecteren dan dient de waarde van beide ouders de 100 niet te overschrijden omdat dan de kans op epilepsie bij de nakomelingen niet hoger wordt dan het geval is in de doorsnee populatie.

Doel van de fokwaardeschatting is om toekomstige dekkingen te helpen voorkomen die tot epilepsie zouden leiden, maar tegelijkertijd ook dragers met andere, voor de populatie waardevolle genenvariëaties - en zodoende een genetische variëteit - voor de fokkerij te kunnen behouden.

Het is dus om verschillende redenen niet aan te bevelen om honden met fokwaarden boven de 100 voor de fok uit te sluiten.

Gesloten hondenpopulaties (hier: ISDS Pedigree) zijn altijd klein en de bloedverwantschapsgraad zal stijgen. Bij onze populatie ligt de gemiddelde graad van verwantschap bij 7% over 6 generaties. Worden meer generaties betrokken bij de bepaling dan is de graad van verwantschap twee keer zo hoog. Per generatie bedraagt de verhoging 0.25-0.5 %.

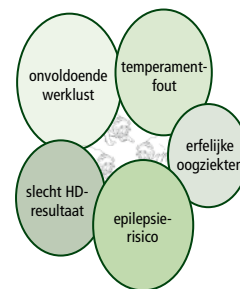
Elk levend wezen is drager van talrijke genetische defecten. Stijgt de graad van verwantschap dan stijgt ook de waarschijnlijkheid dat recessieve, defecte genen zowel door de vader als ook door de moeder worden binnengehaald (bijvoorbeeld omdat beide ouders het gen van de over- overgrootvader hebben geërfd). Nu breekt de ziekte uit. In ernstige mate betreft het vruchtbaarheid, vitaliteit en immuniteit omdat juist deze kenmerken door het samenwerken van heel veel genen tot stand komen waarvan er dan juist eentje uitvalt. Een zo groot mogelijke heterozygositeit (het dier is op zo veel mogelijk genlocaties heterozygoot en heeft dus voor alle kenmerken twee allelen ter beschikking) is de basis voor elke gezonde en flexibele populatie. Hoe meer honden op grond van deze selectiecriteria van de fok worden uitgesloten zoveel kleiner wordt dus de genenpool.

## De invloed van selectiecriteria op de grootte van de populatie

Totaal aantal van de in theorie ter beschikking staande fokpartners



- en de rest na uitsluiting van alle potentiële dragers



Uit wetenschappelijk oogpunt bekeken is de enige uitweg uit deze misère de toepassing van fokstrategieën waarbij zoveel mogelijk honden voor de genenpool behouden blijven en tegelijkertijd de kans op zieke nakomelingen zo veel mogelijk wordt verkleind.

## Waarom dan nog moleculaire genetica?

De polygene oorsprong van de ziekte maakt het moeilijk om het uitbreken van de ziekte te voorspellen. Het fenotype is bij epilepsie nog veel moeilijker te bepalen dan bijvoorbeeld bij HD. Bij HD wordt bij een meer dan 1 jaar oude hond een röntgenopname gemaakt die het fenotype eenduidig en onherroepelijk afbeeldt. Bij epilepsie kunnen honden zelfs na reeds plaatsgevonden dekkingen nog de ziekte idiopathische epilepsie ontwikkelen. De dynamiek van de fokwaarden, die gebaseerd zijn op de verkregen informatie over verwantschappen, bemoeilijkt eveneens een goede en optimale bepaling. Daarom is een moleculair genetisch onderzoek van factoren onvermijdbaar.

Tot op de dag van vandaag werden al meerdere onderzoeksprojecten met het thema idiopathische epilepsie bij de border collie gerealiseerd. In Finland onder leiding van prof. dr. Hannes Lohi, in de Verenigde Staten onder leiding van dr. Mark Neff, in München onder prof. dr. Andrea Fischer en in Engeland met de Animal Health Trust onder leiding van dr. Catheryn Mellersh.

Tot dusver werden tijdens de onderzoeken zogenaamde DNA chips gebruikt. Deze zijn eenvoudig toe te passen en redelijk goedkoop, maar beelden echter slechts zeer beperkte elementen van de genomen uit. Een ander kritisch punt over de onderzoeken tot dusver is de betrokkenheid van te veel rassen, populaties en vormen van epilepsie tegelijkertijd. Hierdoor worden teveel genen tegelijk bij het onderzoek betrokken.

De border collie zoals die sinds de introductie van de FCI Standards 1976 wordt gefokt, is genetisch echter dermate ver verwijderd van de werkhonden in de ISDS dat het om een compleet ander ras zou kunnen gaan – waarschijnlijk voor een groot deel met een andere epilepsie genen-set. Bovendien kunnen aan epilepsie lijdende honden in verschillende categorieën worden onderverdeeld. Aan de ene kant speelt de leeftijd waarop een hond epilepsie ontwikkelt een rol. Hoe eerder de hond ziek wordt, des te slechter reageert hij op medicatie en des te ongunstiger is de prognose. Honden die hun eerste aanval pas boven de 3 jaar kregen hebben volgens de statistieken een hogere kans om beter op medicamenten te reageren en zodoende ook een betere prognose. Alle vormen van epileptische aanvallen gaan gepaard met verlies van bewustzijn, maar er kan wel onderscheid gemaakt worden tussen focale aanvallen die een bepaald deel van de hersenen treffen en de zogeheten gegeneraliseerde aanvallen waarbij het gehele brein is betrokken.

Vaak gaan focale aanvallen over in gegeneraliseerde aanvallen. Om die reden onderscheidt dit onderzoek zich van de tot dusverre gehanteerde strategieën. M.b.v. DNA-sequentiebepaling in plaats van DNA-chips verkrijgen wij een significant hoger informatielevel over het genoom van de testdieren. Wij willen ons op honden focussen die nauwer verwant zijn met familieleden waarvan honden ziek zijn geworden. Bij het onderzoek betrekken wij als groep ook de genomen van zowel de zieke alsook de gezonde pups uit een nestje alsook de genomen van de bijbehorende ouders. Hierbij willen wij ons uitsluitend richten op het belangrijkste aanvalstypen. Wij verwachten om in onze testgroep met deze maatregel meer aanwijzingen te kunnen vinden voor de moleculaire basis van het belangrijkste aanvalstypen. Uiteindelijk hopen wij om via deze weg genmarkers te kunnen identificeren waarmee wij gevaarlijke dragers van epilepsiegenen reeds als pup kunnen herkennen. Zodoende zal men op een bepaald moment in staat zijn om het risico van elke

individuele dekking exact te kunnen bepalen en de selectie op basis van het fenotype kunnen vervangen door direct rekening te houden met de werkelijke genetische aanleg voor epilepsie.

Het onderzoek wordt verricht door Gitte Anders aan de Justis-Liebig Universiteit in Gießen (Reiner/Schmidt) in samenwerking met andere instituten. Fokwaardeschatting en moleculair onderzoek is tijdrovend en duur. De door Doris Brand verzamelde gegevens zijn daarbij van onschatbare waarde. Royale financiële steun voor materiaalintensief laboratoriumwerk werd reeds verleend door de familie Hennemann en werd ook toegezegd door de Duitse border collie vereniging ABCD en de ISDS. Aanvullende fondsenwerving zal volgen.

Uiteindelijk hangt het succes van deze actie in de eerste plaats af van de bijdrage van elke betrokken en getroffen fokker. Hoe preciezer de informatie die ons bereikt, hoe hoger de kans van slagen. Wij willen grip op dit probleem krijgen en de epilepsie op de lange termijn bekeken efficiënt bestrijden – zonder de heterozygositeit en dus de gezondheid van onze border collie op het spel te zetten - door fokwaarden doelgericht aan te passen en moleculaire genmarkers te identificeren en toe te passen.

Elke fokker kan getroffen zijn, dus moet iedereen de handen mee uit de mouwen steken.

Wij verzoeken u daarom dringend om door epilepsie getroffen honden te melden bij uw fokvereniging of direct bij de begeleidende promovenda Gitte Anders.

*Oorspronkelijke titel: Molekulargenetische Untersuchungen und Ermittlung von Zuchtwerten zur idiopathischen Epilepsie beim Border Collie in Deutschland, auteur Tierärztin Gitte Anders.*

*Vertaling: Sabine Bliefert*

Op onderstaande link kunt u nog wat meer informatie vinden over epilepsie:  
<http://www.veterinair-neuroloog.nl/onderzoek/kwaliteit-van-leven-en-epilepsie>

# Hondenfotografie, dankbaar werk

Kennis en passie is slechts het begin. Geduld en ontspanning maken de foto.

Veel mensen zijn toch wel een beetje zenuwachtig voor een fotoshoot. Honden voelen dat piekfijn aan en gedragen zich nét even anders. Dat is helemaal niet erg. Het is aan mij de taak om geduld te hebben en zowel hond en baas op het gemak te stellen. Even lekker rennen en gek doen of juist rustig een stukje wandelen. Dat maakt allemaal niet uit, het moment dat ik net die ene toffe foto kan maken komt echt wel. Als ik dan later hoor dat ze het karakter van de hond terug kunnen zien in de foto, dan weet ik dat mijn missie geslaagd is: een dankbare foto.



Fenna  
Foto: Pieter Bezuijen  
ThanQ.eu - dankbare hondenfotografie