

Vitenskapelig sluttrapport for prosjektet N2021-0020;

Genetisk kartlegging av øgonsjukdommen distichiasis hos hund

Professor Frode Lingaas, Medisinsk genetikk-hund, Veterinærhøgskolen-NMBU

Populærvetenskaplig sammanfattning

Distichiasis er en sykdom med feilstilte hår i hundens øyelokk. Sykdommen kan være uni eller bilateral og antallet feilstilte øyehår kan variere betydelig mellom øyne og mellom hunder. Det er viktig å få er kunnskap om denne sykdommen som finnes hos en rekke hunderaser i varierende frekvens. Sykdommen er høy utbredelse hos staffordshire bull terrier.

I prosjektet har vi samlet inn et stort antall prøver fra affiserte og friske staffordshire bull terriere. Prøvene er analysert ved genomiske analyser ved hjelp av genetiske markører som dekker hele genomet (GWAS). Forskergruppen har estimert arvegrader både ved hjelp av stamtavler og ved genomiske analyser og har vist at arvegradene var fra 22-47% avhengig av metode som ble brukt. Vi har også identifisert områder på 4 kromosomer som er assosiert med distichiasis. Vi har også vist at genomisk prediksjon kan være nyttig for å identifisere hunder med forøket/reduert risiko, og at denne informasjonen kan være nyttig som støtte i utvalg av hunder med lav risiko til avl.

Inledning, bakgrund, syfte och frågeställning

Distichiasis forekommer hyppig hos staffordshire bull terrier (SBT). Den kliniske betydningen for hundene er varierende, men vil oftest være plagsomme for hundene. Noen ganger kan disse øyehårende vokse rett mot cornea og kalles da "ectopic cilia". Dette kan gi stor skade på cornea og vil være svært smertefullt for hunden. Distichiasis og ectopic cilia opptrer vanligvis tidlig i livet og er ofte medfødt. Sykdommen kan vanligvis identifiseres lett ved øyelysing, men kan ha en varierende «time at onset». Dette kan enten skyldes at hårene hos unge valper kan være tynne og ikke blir oppdaget, eller at de faktisk dukker opp seinere. Det er derfor anbefalt at en venter med å stille en sikker diagnose til hunden er over 1 år

Målet med prosjektet har vært å skaffe ny kunnskap om etiologien til distichiasis hos SBT. Spesielt har forskergruppen vært opptatt av å forsøke å identifisere spesifikke gener/genvarianter som er direkte knyttet til risiko for sykdommen. Dette arbeidet blir gjennomført ved å samle inn DNA-prøver fra mange syke og friske hunder og sammenligne alle genregioner ved genomiske analyser (GWAS) for å finne genvarianter som er systematisk forskjellige mellom syke og friske hunder.

Formålet med prosjektet har til slutt vært å vurdere om en kan bruke denne kunnskapen til å identifisere hunder med lav risiko og å bruke denne kunnskapen som støtte ved seleksjon av avlshunder med lavest risiko for å kunne redusere forekomsten av sykdommen.

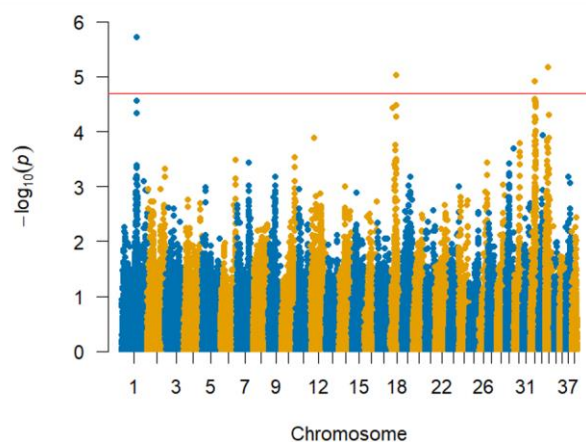
Material och metoder

Prosjektgruppen brukte SBT-prøver fra biobanken ved Veterinærhøgskolen-NMBU som ble koblet mot øyelysingsdata fra ECVO-sertifiserte veterinærer. Totalt ble brukt et materiale i analysene (etter fjerning av prøver som ikke tilfredstilte kvalitetskontroll) på 731 hunder (407 kontroller og 324 syke/caser).

DNA ble ekstrahert fra EDTA-prøver og DNA ble brukt til Genome Wide Association Studies (GWAS) ved bruk av Illumina SNP-array. Genotypingen ble utført ved «Neogen, USA». Analysene av datasettene ble gjort med programmene PLINK og GCTA.

Resultat

Ved en assosiasjons-analyse (GWAS) ble det identifisert regioner på 4 kromosomer som hadde en signifikant assosiasjon til distichiasis.



Ved detaljerte studier ble det identifisert flere genetiske markører (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) som hadde en ulik fordeling hos affiserte og friske hunder, dvs de hadde varianter både knyttet til økt og redusert risiko. Ved å se på flere slike varianter kunne vi se at summen av risikovarianter var ulikt fordelt hos affiserte og friske hunder;

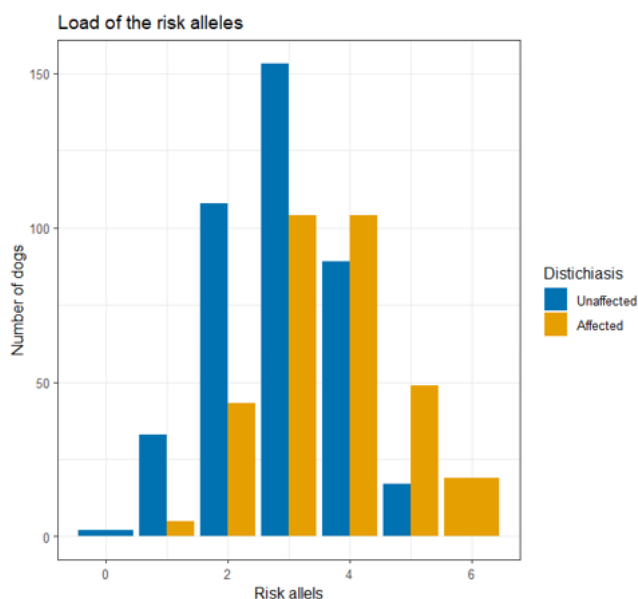


Figure 5. The total load of the risk alleles in the four identified loci in cases and controls.

Figuren viser at antall risikoalleler/varianter er høyere hos affiserte (gule) hunder enn hos de friske. Prosjektet viste også at man kan bruke genomisk prediksjon som støtte i avlsarbeidet hos SBT.

Diskussion

Prosjektet har vist hvordan data fra ECVO-øylediagnoser av distichiasis i SBT kan brukes for å få økt kunnskap om etiologien til sykdommen. Sammenstilling av øylediagnoser i en rase der et høyt antall hunder blir øyelyst med kvalitetssikret diagnostikk, med stamtavleopplysninger, gir muligheter for beregning av arvegrader for sykdommen. Videre kan slike diagnoser kobles mot biobank-materialer til å få økt kunnskap om etiologien av sykdom. I dette tilfellet ble DNA-prøver både brukt til å estimere genomiske arvegrader, og i neste omgang ble det identifisert flere genområder med genvarianter som var assosiert til distichiasis. Det ble også gjort lovende forsøk med genomisk prediksjon som indikerte at man i tilfeller med kvalitetssikrede diagnoser kan ha nytte av genomisk prediksjon i avlsarbeidet også på hund. Men forutsetningen er at en har store materialer og kvalitetssikrede diagnoser.

Slutsatser og praktisk nytta

Prosjektet har gitt ny kunnskap om at arvegraden er moderat til høy for distichiasis hos SBT, og at det er mulig å finne assosierte genvarianter for øyesykdommer med en multifaktoriell/kompleks nedarving. Estimering av risiko basert på assosierte kjente

markørvarianter eller genomisk prediksjon basert på varianter fra hele genomet ser ut til å kunne være nyttig også på hund.

Publikasjoner

Joergensen D, Madsen P, Ropstad EO, Lingaas F., 2022. Heritability estimates of distichiasis in Staffordshire bull terriers using pedigrees and genome-wide SNP data. *Acta Vet Scand.* 2022 Nov 21

Jørgensen D, Ropstad EO, Meuwissen T, Lingaas F., 2023. Genomic analysis and prediction of genomic values for distichiasis in Staffordshire bull terriers. *Canine Med Genet.* 2023 Jul 24;1

Prosjektarbeidet og støtten fra Agria/SKK har også bidratt til en doktorgrad for Dina Jørgensen i februar 2024



Norwegian University of Life Sciences
Faculty of Veterinary Medicine
Department of Preclinical Sciences and Pathology

Philosophiae Doctor (PhD)
Thesis 2024:02

Genetic studies of distichiasis in the Staffordshirebull terriers and cataract in Norwegian buhunds

Genetiske studier av distichiasis hos Staffordshire bull terrier og katarakt hos Norsk buhund

Dina Turid Ulstein Jørgensen