

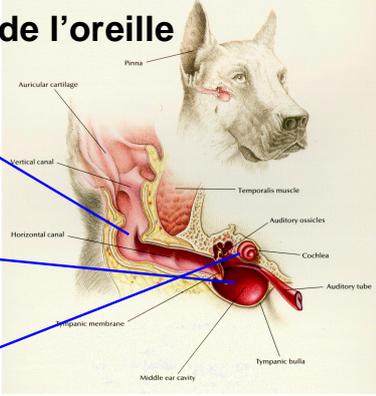


Surdité chez le chien et génétique de la pigmentation

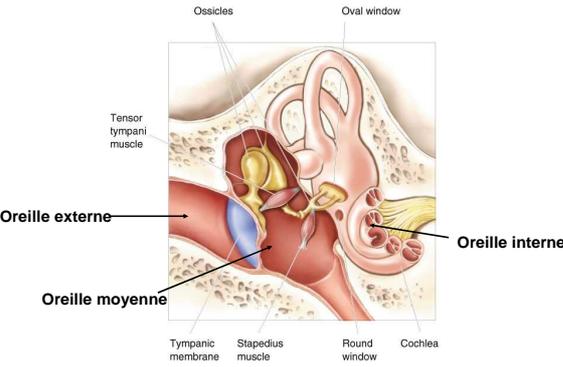
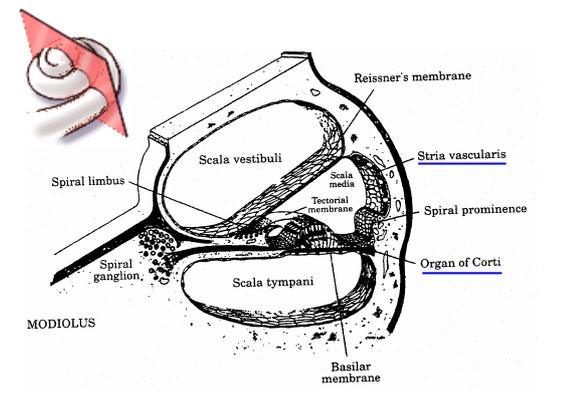


George M. Strain
Louisiana State University
Baton Rouge, LA, USA
March, 2008

Anatomie de l'oreille



- Oreille externe
- Oreille moyenne
- Oreille interne

Formes de surdité

- Héréditaire^{*} ou acquise
- congénitale^{*} ou d'apparition + tardive
- Neurosensorielle^{*} ou de conduction

resultat: huit combinaisons possibles (i.e., surdité neurosensorielle acquise d'apparition tardive)

Definitions

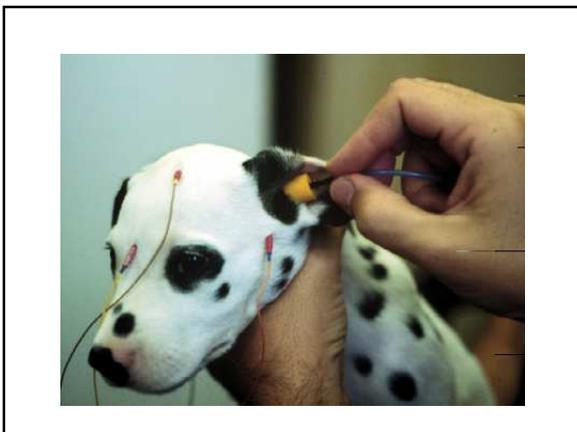
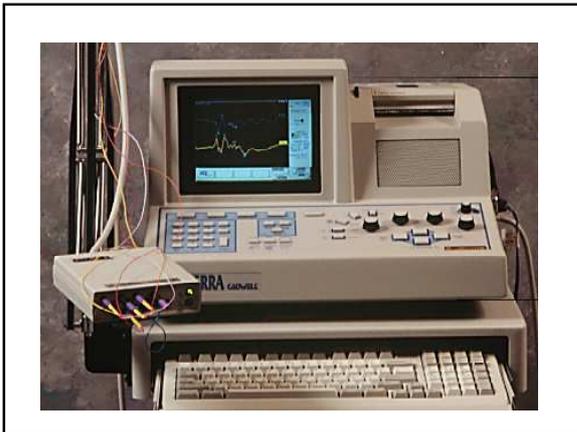
- Surdité neurosensorielle - perte de la fonction auditive due à la perte des cellules ciliées cochléaires ou des neurones du nerf cochléaire auquel elles se connectent
- surdité conductive - blocage de la transmission du son au travers de l'oreille externe et/ou moyenne sans anomalie de la cochlée

Les formes de Surdité les Plus Courantes

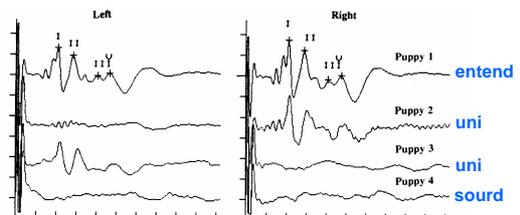
- **Surdité neuro-sensorielle congénitale héréditaire**
 - Dalmatien, autres chiens blancs
 - Doberman
- **Surdité neuro-sensorielle acquise d'apparition + tardive**
 - Presby-acousie, ototoxicité, traumatisme sonore
- **Surdité de conduction, acquise, d'apparition + tardive**
 - Otite externe, otite moyenne

Tests Auditifs

- **Test comportemental** - stimuli sonores produits hors du champ visuel de l'animal
 - Ne peut pas détecter des surdités unilatérales
 - Les animaux s'adaptent rapidement au test
 - Les stimuli sont détectés au travers d'autres modalités sensorielles
- **Test electrodiagnostique** - Brainstem Auditory Evoked response (BAER, BAEP, ABR) Potentiels Evoqu s Auditifs (PEA)
 - objectif, non-invasif
 - détecte surdités unilatérales
 - Disponibilité limitée



Brainstem Auditory Evoked Response



Surdité Neurosensorielle Congénitale Héritaire

- Habituellement liée aux gènes responsables du blanc
 - Allèles récessifs du gène piebald: Irish spotting (si), piebald (sp), extreme-white piebald (sw)
 - Gène Merle (M)
- La surdité se développe dès l'âge de 3 à 4 semaines quand la vascularisation de la cochlée (stria vascularis) dégénère
- La dégénérescence cochléaire résulte probablement d'une absence de cellules pigmentaires (mélanocytes) qui aident normalement au maintien de la concentration ionique en K⁺ et Na⁺
- D'autres répercussions pigmentaires sont fréquemment observées

Notez la couleur de l'iris gauche, absence de pigment dans le tapis



Les Races de Chiens Atteints de Surdité Congénitale

- reportée dans presque 90 races de chiens
- prévalence (unilateral & bilateral) la plus haute chez:

▪ Dalmatien (n=5,333)	30%
▪ white bull terrier (n=346)	20%
▪ English setter (n=3,656)	8%
▪ English cocker spaniel (n=1,274)	6%
▪ Australian cattle dog (n=296)	15%
▪ Jack Russell terrier (n=84)	13%*
▪ Catahoula leopard dog (n=78)	63%*

(prevalence inconnue pour la plupart des races)

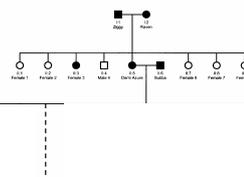
Génétique de la Surdité Congénitale

- Doberman – simple autosomal récessif + anomalie vestibulaire, pas associée à la pigmentation (perte primaire des cellules ciliées)
- Surdité du pointer "nerveux" – simple autosomal récessif (bred for anxiety research studies)
- Surdité liée à la pigmentation chez le chien - ?
 - **gene merle (M)** - dominant; les chiens homozygotes sont susceptibles d'avoir d'autres problèmes de santé
 - **gene piebald (s)** - récessif, mais tous les chiens à poils blancs de la race sont homozygotes – la surdité est probablement due à un locus unique avec des gènes modificateurs – PAS simplement autosomal récessif

Genes Responsables de la Pigmentation de la Robe Chez le Dalmatien

- Couleur de base du poil
 - **B** - black (dominant)
 - **b** - liver (recessive)
- Extreme-white piebald gene - **s^w** - responsable de la robe blanche; récessif mais homozygote chez tous les Dalmatiens [le pelage et la peau sont blancs s'ils ne contiennent pas de granules pigmentaires (mélanine) ou d'autres substances qui absorbent la lumière]
- Ticking gene - **T** - dominant, produit des "trous" dans le blanc qui font apparaître la couleur de base

Demi Azure Pedigree



Effet de la Variation d'Expression du Gène Extreme-White Piebald

- **Faible** expression du gène: incapacité du gène piebald à supprimer complètement la couleur de base (noir ou liver) produit un patch; l'animal est moins susceptible d'être sourd
- **Forte** expression du gène supprime la pigmentation de l'iris (yeux bleus) et du tapis (oeil rouge), et au niveau de la stria vascularis (surdité)

Patches



Présents à la naissance alors que les tâches ne sont pas encore apparues

L' Allèle du Gène Merle est Maintenant Identifié

Leigh Anne Clark, Keith Murphy – Texas A&M University

- Démonstré comme étant un gène sur le chromosome 10 associé à une fonction de gène pigmentaire – *SILV* (*Silver* in rodents).
- La forme Merle résulte de l'insertion d'une petite pièce d'ADN (*SINE*) selon une orientation inverse à la normale (retrotransposon).
- Un test ADN est désormais disponible pour identifier les porteurs hétérozygotes (mM) ou homozygotes (MM) de l'allèle dominant du gène merle (écouvillon buccal)
- Cette étude n'explique pas encore pourquoi le gène de la pigmentation est responsable de la surdité

Leigh Anne Clark, Jacquelyn M. Wahl, Christine A. Rees, and Keith E. Murphy. Retrotransposon insertion in *SILV* is responsible for merle patterning of the domestic dog. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 9 January 2006, 103(5):1376-81.

Le Gène Piebald est Maintenant Identifié

Elinor Karlsson et al – Broad Institute, Harvard & MIT

- Démonstré comme étant le gène pigmentaire *MITF* (microphthalmia-associated transcription factor), localisé sur le chromosome canin N°20
- Une absence du gène *MITF* est responsable d'une des formes du syndrome de Waardenburg chez l'homme.
- Cette étude n'explique pas encore pourquoi le gène de la pigmentation est responsable de la surdité

• EK Karlsson *et al.* Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association. *Nature Genetics* 30 September 2007, 39:1321-1328.

Gènes Responsables de la Couleur et des Motifs de la Robe du Chien

- | | |
|---------------------------|--------------------|
| • Couleurs de base | • Marques blanches |
| – A (agouti) | – M (merle) |
| – B (brown) | – S (spotting) |
| – E (extension) | – T (ticking) |
| – K (from dominant black) | – R (roan) |
| | – H (Harlequin) |

(Also 5 genes for diluted colors: *D, C, P, I, G*)

SM Schmutz, TG Berryere. Genes affecting coat colour and pattern in domestic dogs. *Animal Genetics* 38: 539-549, 2007.

Les Gènes de Couleur

- A* (agouti) = *ASIP* (*agouti signalling protein*) CFA24
- | | |
|----------------------|---|
| <i>A^v</i> | Fawn/sable (crème à jaune à rouge) |
| <i>a^w</i> | Wolf sable (wild type; bandes noires-jaunes-noires) |
| <i>a^t</i> | Noir ou Marron |
| <i>a</i> | Noir récessif |
- B* (brown) = *TYRP1* (*tyrosinase related protein 1*) CFA11
- | | |
|----------|-----------------|
| <i>B</i> | Black eumelanin |
| <i>b</i> | Brown eumelanin |
- E* (extension) = *MC1R* (*melanocortin receptor 1*) CFA5
- | | |
|----------------------|---|
| <i>E^M</i> | Melanistic mask |
| <i>E</i> | Eumelanin (noir, marron, bleu) peut être produite |
| <i>e</i> | seulement phaeomélanine (rouge, jaune, crème) |

[The *TYRP1* alleles and the *MC1R* alleles interact, one *E* or *E^M* allele is required to get black or brown and one *K^b* allele is also required.]

Les Gènes de Couleur (suite)

K (from 'dominant black') = *CBD103* (canine β -defensin 103) CFA16

<i>K^B</i>	pigmenté par eumélanine seulement (noir, marron, bleu)
<i>k^{br}</i>	Taches (sur une partie du corps qui serait pigmentée par la phéomélanine autrement)
<i>k^y</i>	Expression des allèles agouti qui rendent possible l'expression de la phéomélanine

Gènes Responsables des Marques Blanches

M (merle) = *SILV* (equivalent to mouse *Silver*) CFA10

<i>M</i>	zone non colorée/diluée
<i>m</i>	Colorée

S (spotting) = *MITF* (*microphthalmia-associated transcription factor*) CFA20

<i>S</i>	Solid coloring
<i>sⁱ</i>	Irish spotting
<i>s^p</i>	Piebald
<i>s^w</i>	Extreme white

T (ticking) = ? gene

<i>T</i>	Ticked
<i>t</i>	Not ticked

Gènes Responsables des Marques Blanches (suite)

R (roan) = ? gene

<i>R</i>	blanc chez homozygote (poils blancs mêlés à des poils de couleur)
<i>r</i>	Coloré chez homozygote

H (Harlequin) = ? gène (dominant/récessif si l'allèle *M* responsable du merle est présent)

<i>H</i>	Harlequin si <i>M/m</i> or <i>M/M</i>
<i>h</i>	Not Harlequin

Couleur Noire vs Jaune de la Robe

- Deux pigments mélanocytaires sont responsables du spectre de couleurs observé chez les mammifères: eumélanine noire et phéomélanine jaune
- Dans la plupart des espèces, jaune vs. noir, est le résultat de la combinaison deux gènes: *Agouti* et *melanocortin 1 receptor* (*MC1R*). *MC1R* est un récepteur G protein-coupled. La Melanocyte stimulating hormone (MSH) en est un agoniste.
- Dans une espèce – le chien – un 3ème gène connu sous le nom de locus *K* joue également un rôle important. L'ordre de dominance pour le locus *K* est: *Black* (*K^B*) > *brindle* (*k^{br}*) > *yellow* (*k^y*)
- *Dominant black* est une mutation d'une β -defensin canine (*CBD103*). Les β -defensins sont des peptides endogènes avec des propriétés ATBQ et sont le plus souvent situés dans l'épithélium.

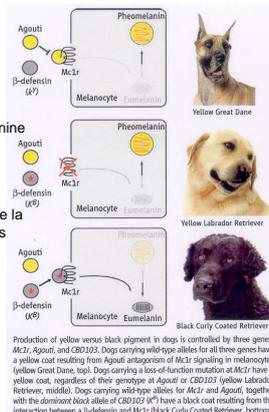
La régulation du pigment jaune vs. noir chez le chien est contrôlé par 3 gènes: *MC1R*, *Agouti*, et *CBD103*. un β -defensin. *Agouti* and *CBD103* sont concurrents au niveau du récepteur *MC1R*

Le signal *MC1R* dans les mélanocytes déclenche la production du pigment eumélanine (l'allèle dominant de la β -defensin (*K^B*) active *MC1R* (schémas du bas).

Agouti antagonise *MC1R*, produisant une robe jaune (schémas du haut) à partir de la production de phéomélanine lorsque les trois allèles de type sauvage (y compris *k^y*) sont présents

Une mutation de *MC1R* avec perte de sa fonction produit du jaune, indépendamment du genotype *Agouti* ou β -defensin (schémas du centre).

Si Candille et al. A β -defensin mutation causes black coat color in domestic dogs. *Science* 318: 1418-1423, 2007.



Merle

- Merle est l'allèle dominant d'un locus pigmentaire qui produit un motif aléatoire de pigmentation diluée recouvrant la coloration uniforme.
- La prévalence de la surdité dans les races merle n'est pas bien documentée, mais des études récentes suggèrent qu'elle est la même que pour les races piebald.
- Connu sous le terme "tacheté" (dapple) dans certaines races
- Peut être accompagné de surdité, cécité et stérilité, particulièrement pour les individus *M/M*.

Races avec Merle

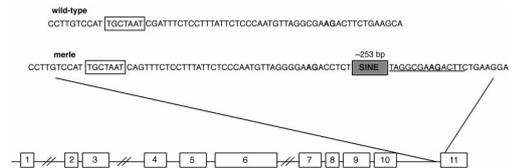
- Collie
- Australian shepherd
- Shetland sheepdog
- Catahoula leopard dog
- Cardigan Welsh corgi
- Dachshund
- Great Dane
- Chihuahua
- American pit bull terrier
- American Staffordshire terrier
- Beauceron
- Border collie
- Koolie
- Poodle
- Pyrenean shepherd
- Old English sheepdog
- American cocker spaniel
- Pomeranian
- Hungarian Mudi
- Norwegian dunkerhound
- Others

Merle Dogs



Merle

- Désormais connu pour être une mutation du gène *SILV* (*Silver* in mice).
- La mutation consiste en une insertion du retrotransposon 253 bp SINE (short interspersed element) juste avant Exon 11 qui comprend également une queue poly-A (multiple adenine repeats).
- Pour obtenir le phénotype merle, la queue poly-A du SINE doit être une répétition de 90-100 adenine. Des queues poly-A plus courtes produisent des merle "cryptiques" qui n'ont pas le phénotype merle mais produisent une descendance merle.



Structure of wild-type canine *SILV* and sequence of the SINE insertion site in merle dogs. The putative lariet branch point sequence is boxed. Splicing acceptors are indicated by bold type. In merle dogs, the splicing acceptor is located in the 15-bp duplicated sequence (underlined) that flanks the SINE insertion at Exon 11. The average insertion size (not including the duplicated poly-A sequence) for the merle dogs analyzed is 253 bp.

SILV = dog homolog of the rodent Silver pigment locus
SINE = short interspersed element.

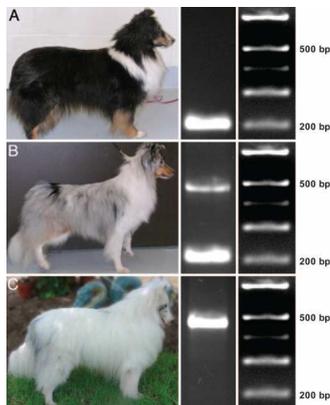
SINE insertion in *SILV* segregates with merle phenotype.

(A) Tricolored (black, sable, and white), non-merle Shetland sheepdog (*mm*).

(B) Blue merle Shetland sheepdog (*Mm*).

(C) Double merle Shetland sheepdog (*MM*).

Left: phenotypes.
Center: Exon 11 PCR products.
Right: length markers.



LA Clark *et al.* Retrotransposon insertion in *SILV* is responsible for merle patterning in the domestic dog. *Proc Natl Acad Sci* 103: 1376-1381, 2006.

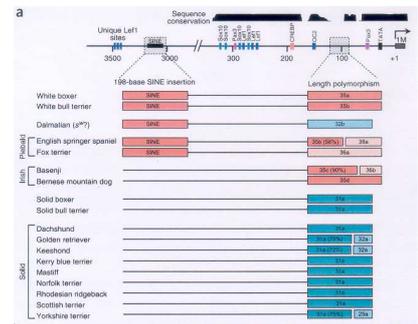
Piebald

- Trois allèles récessifs, avec une quantité de blanc croissante; l'allèle dominant (*S*) donne une couleur solide (forte?)
 - Irish spotting (*s*ⁱ) – qq plages de blanc sur le thorax, les pattes, la face ou la tête; Basenji, Bernese mountain dog, bloodhound
 - Piebald (*s*^p) – davantage de blanc sur la surface du corps que pour Irish spotting y compris les membres; English springer spaniel, fox terrier, beagle
 - Extreme white piebald (*s*^w) – encore plus de blanc, y compris les oreilles et la base de la queue; Dalmatian, white bull terrier, white boxer?
- Tous les chiens blancs sont homozygotes pour leur allèle récessif

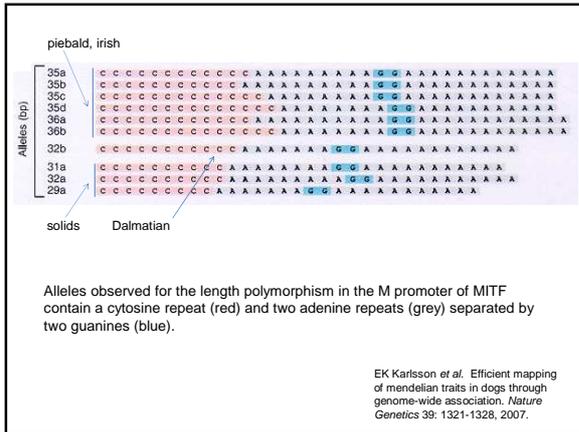
Piebald

- Two candidate mutations in a 3.5-kb region upstream of the M promoter region in the *MITF* gene
 - une insertion SINE présente chez toutes les races extreme piebald (s^w) et piebald (s^p) testées, mais absente chez tous les Irish spotting (s^i) et les chiens solid (S)
 - un polymorphisme unique (raccourcissement de la région promotrice) chez les chiens solid
 - Les Dalmatiens (s^w) portent l'insertion SINE mais un allèle court sur le site du polymorphisme, suggérant une mutation unique

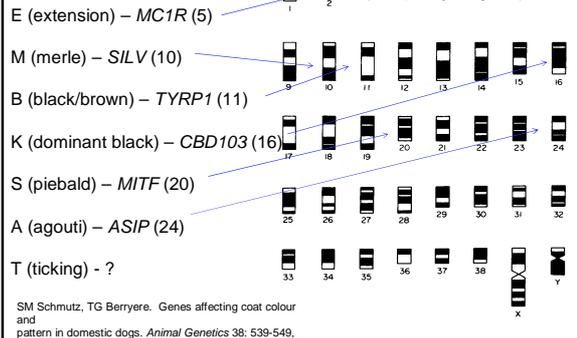
Alleles by breed for the two candidate *MITF* mutations. Two candidate mutations are found within a region 3.5-kb upstream of the M promoter of the *MITF* gene. Solid dogs in all breeds lack the SINE insertion and have a short (29–32-bp) allele in the M promoter. White boxers and bull terriers and piebald (s^p) breeds have both the SINE insertion and a longer promoter allele (35–36 bp), whereas Irish spotted (s^i) dogs lack the SINE element but have a longer variant at the promoter. Dalmatians (s^w) carry the SINE element and a private short allele, suggesting a unique mutation.



EK Karlsson *et al.* Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association. *Nature Genetics* 39: 1321-1328, 2007.



Gènes identifiés chez le chien



Certaines questions restent sans réponse

- La surdité héréditaire est clairement liée à des gènes responsables du blanc chez le chien. Quelle est la relation mécanique entre les structures du *SILV* et/ou *MITF* et la surdité?
 - Existe-t-il un nouveau polymorphisme dans le *SILV* retrotransposon SINE ou le *MITF* SINE ou du polymorphisme de taille chez les chiens sourds?
 - Est-ce qu'un gène modificateur influence la force d'impact des gènes du blanc sur la cochlée?
 - Existe-t-il des facteurs environnementaux qui interagissent avec les produits des gènes? (E.g., les hommes aux yeux bleus sont plus sensibles à la surdité induite par le bruit que les hommes aux yeux marrons)

