

GENETIQUE DE L'ESPECE CANINE

L'espèce canine possède 78 chromosomes repartis par paires (un chromosome d'origine paternelle et un chromosome d'origine maternelle dans chaque paire). On distingue 38 paires de chromosomes appelés autosomes qui sont tous les chromosomes sauf les chromosomes sexuels (X et Y) et une paire de chromosomes sexuels.

LES BASES DE L'HÉRÉDITÉ

1 - ADN, chromosome, gène, locus, allèles, quelques définitions

L'information génétique du Chien est portée par ses **chromosomes**, que l'on trouve dans le noyau des cellules. L'espèce canine possède **78 chromosomes** repartis par paires (un chromosome d'origine paternelle et un chromosome d'origine maternelle dans chaque paire). On distingue 38 paires de chromosomes appelés **autosomes** qui sont tous les chromosomes sauf les **chromosomes** sexuels (X et Y) et une paire de chromosomes sexuels. Les chiens mâles sont donc 76 XY et les chiennes 76 XX.

Chaque chromosome est constitué d'**ADN** (acide désoxyribonucléique) et comporte des unités de structure et de fonction appelés **gènes** (de façon simplifiée, un gène est une séquence d'ADN qui va permettre la synthèse d'une protéine). Chaque gène possède un emplacement exact et invariable sur un chromosome. Cet emplacement est appelé le **locus** du gène.

Un même gène peut se rencontrer sous différentes formes que l'on appelle les allèles du gène. Ces variations sont à la base des différences qui existent entre les individus.

Les chromosomes maternel et paternel d'une même paire portent les mêmes gènes mais pas forcément les mêmes **allèles**. Ainsi un individu peut posséder 2 allèles différents du même gène. On qualifie d'**homozygote** un individu possédant le même allèle sur le chromosome d'origine paternelle et sur le chromosome d'origine maternelle, et d'**hétérozygote** un individu possédant 2 allèles différents.

On appelle **génotype** la combinaison des allèles de tous les gènes d'un individu. De façon générale, lorsqu'un individu possède 2 allèles différents, seule l'expression de l'allèle **dominant** est visible. L'autre allèle (dont l'expression reste invisible) est alors appelé **récessif**. Dans le rare cas où l'expression des deux allèles est visible, on les qualifie de co-dominants.

Par exemple : chez le Chien au locus B (Brown) on trouve le gène TYRP1 (Tyrosinase-related protein 1) qui est responsable de la couleur noire ou brune (chocolat) de l'eumélanine (pigment du poil). Ce locus comporte 2 allèles : B (dominant, production d'une eumélanine noire), et b (récessif, production d'une eumélanine brune). Ainsi un chien BB (homozygote B) ou Bb (hétérozygote) sera noir, tandis qu'un chien bb (homozygote b) sera chocolat.

2- Le génome du chien

Le caryotype établit le nombre et la morphologie des chromosomes qui constituent une espèce. Ils sont classés par paire et par taille. Chez le chien, le caryotype dénombre 78 chromosomes répartis en 38 paires d'autosomes et en une paire de chromosomes sexuels X

et Y. Le très gros travail de cartographie des chromosomes, qui est une technique qui consiste à localiser des marqueurs sur les chromosomes, a été réalisé conjointement par les équipes des Drs Francis Galibert et Catherine André au CNRS de Rennes et du Dr Elaine Ostrander au NIH (USA). Ces travaux ont servi de base à l'assemblage des séquences du génome canin et ont également permis une cartographie comparée entre l'homme, la souris et le chien.

Le chien a été la cinquième espèce, après l'Homme, la Souris, le Rat et le Chimpanzé, dont le génome a été séquencé avec une très bonne couverture. En 2005, cette étape, de séquençage, c'est-à-dire la détermination base par base de la totalité du génome, a été réalisée d'après un Boxer. D'une taille de 2,44 Gb, le génome canin contient un peu moins de 20000 gènes. Une première annotation avait été réalisée à partir de logiciels de prédiction de gènes. La seconde annotation du génome canin, disponible depuis 2012, a été effectuée à partir du re-séquençage d'ARN messenger de différents tissus et reflète la structure effective des gènes.

Cette description précise de la séquence du génome du chien a permis la connaissance accrue d'éléments particuliers tels que des variations ponctuelles ou polymorphismes entre races, des séquences répétées, qui interviennent dans l'identification génétique d'un individu ou qui peuvent jouer un rôle dans des phénotypes particuliers (la mutation Merle), la variation du nombre de copies d'une séquence qui peuvent intervenir dans des maladies (par exemple la fièvre familiale chez le Shar-Pei).

3- Utilisation des ressources génomiques

Des outils techniques facilitant les recherches sur les maladies génétiques ont également été mis au point. La puce SNP (Single Nucleotide polymorphism) d'Illumina avec 172 000 marqueurs a apporté de la puissance et une accélération à la recherche : là où plusieurs mois étaient nécessaires pour génotyper une cohorte d'individus sur quelques centaines de marqueurs, c'est-à-dire caractériser chaque individu pour chaque marqueur, 2 à 3 semaines suffisent avec ces puces à ADN pour réaliser ce travail de génotypage sur des milliers de marqueurs, augmentant la puissance des calculs statistiques.

Par ailleurs, les techniques de séquençage ont également évolué : il est possible de connaître le génome complet d'un individu en quelques semaines. Enfin, le développement de la transcriptomique, relative aux ARN messagers, permet des approches complémentaires et une meilleure compréhension des mécanismes en jeu dans ces maladies génétiques.

Néanmoins, la puissance de ces outils ne permet pas aux projets de recherche sur les maladies génétiques d'aboutir si une très bonne caractérisation phénotypique des animaux intégrant les cohortes d'étude n'est pas réalisée rigoureusement. Que ce soit pour des caractères relatifs à la robe (couleur, longueur de poils...), à la morphologie extérieure (taille...) ou pour des maladies dont la caractérisation clinique la plus poussée est riche d'informations, cette première étape est essentielle à la suite du déroulement des projets.

LES MALADIES HÉRÉDITAIRES CHEZ LE CHIEN

1- Pourquoi autant de maladies héréditaires ?

Après l'espèce humaine, le chien est l'espèce de mammifère dans laquelle il a été identifié le plus grand nombre de maladies héréditaires. En juin 2015, on dénombrait ainsi plus de 600 maladies héréditaires dans l'espèce canine. Cette situation peut s'expliquer par l'origine même de nos chiens domestiques. En effet, les chiens domestiques actuels sont les descendants de loups domestiqués il y a environ 15 000 ans et les races canines, telles que nous les connaissons, sont le fruit d'intenses efforts de sélection, et de croisements effectués « à façon » par l'homme. De plus, les plus de 400 races canines présentent une diversité morphologique, comportementale et de sensibilité aux maladies génétiques jamais égalée chez les mammifères. Les premiers chiens, issus de la domestication du loup, ont été sélectionnés par l'homme pour répondre à des critères utilitaires variés : chiens pour la chasse, la garde, le portage, le gardiennage des troupeaux.

Par la suite, les pratiques d'élevage telles que l'utilisation d'un nombre réduit de lices et d'étalons champions, la sélection stricte de leurs descendants et l'usage de la consanguinité (utilisée pour fixer rapidement des caractères morphologiques tels que taille, conformation, couleur et texture de pelage) ou comportementaux (aptitude à la garde des troupeaux, à la chasse, au gardiennage) ont abouties à l'homogénéité des individus au sein d'une même race. Cependant, en même temps que les caractères désirés étaient conservés durablement, de façon involontaire, des caractères non détectables à la naissance ont également été fixés. Ainsi, des allèles responsables de maladies héréditaires simples, ou des combinaisons d'allèles non adéquates responsables de maladies héréditaires complexes font désormais partie du patrimoine génétique de chaque race canine.

L'espèce canine bénéficie actuellement d'une excellente surveillance médicale. La médecine vétérinaire dispose d'outils puissants pour le dépistage, le diagnostic et le traitement des maladies canines. De plus, le suivi vétérinaire des chiens de compagnie et de travail s'est intensifié ces vingt dernières années. La vaccination ou la prophylaxie contre les parasites sont des actes courants chez le chien. Le recours aux aliments industriels, correctement dosés en nutriments, a fait nettement diminuer les cas de carences ou d'intoxications d'origine alimentaire. Lorsque les paramètres d'environnement sont ainsi contrôlés et que la qualité des soins augmente, les maladies héréditaires, qui pouvaient être masquées par les maladies environnementales ou les accidents, émergent et peuvent alors être diagnostiquées. Ainsi, le nombre des maladies héréditaires canines décrites augmente chaque année. La base de données OMIA (Online Mendelian Inheritance In Animals : [http : //omia.angis.org.au/](http://omia.angis.org.au/)) répertoriait ainsi, en juillet 2015, 653 maladies et caractères d'intérêt (groupes sanguins, couleurs et texture du pelage) héréditaires chez le chien. Parmi ces 653 entités, 263 maladies ou caractères étaient déterminés simplement par un seul gène, et 193 ont été caractérisés au niveau moléculaire : gène et mutation(s) décrits.

2- Différents modes de transmission

2.1. Transmission autosomique dominante

Les maladies ou caractères autosomiques dominants sont déterminés par un gène causal qui est porté par un autosome et dont l'allèle responsable est dominant. Les maladies autosomiques dominantes n'ont donc besoin que de la présence d'un seul allèle délétère pour s'exprimer. De façon générale :

- l'un des parents de l'individu atteint est lui-même atteint,
- la maladie affecte les 2 sexes dans les mêmes proportions,
- la maladie est transmise par les 2 sexes de façon équivalente,
- un individu né de l'union entre un individu affecté et un individu non affecté a un risque de 50% d'être affecté.

Cependant, la plupart de ces maladies autosomiques dominantes sont dites à **pénétrance incomplète** : tous les individus qui portent l'allèle délétère responsable de la maladie ne sont pas obligatoirement atteints (ils n'expriment pas leur génotype, mais transmettent quand même la maladie). Il y a donc parfois un peu moins de 50% de la portée qui est effectivement atteinte et dans certains cas les deux parents peuvent être sains.

2.2. Transmission autosomique récessive

Les maladies ou caractères autosomiques récessifs sont déterminés par un gène causal qui est porté par un autosome et dont l'allèle responsable est récessif. Les maladies autosomiques récessives ont donc besoin de la présence de deux copies de l'allèle délétère pour s'exprimer. C'est le mode de transmission le plus fréquemment rencontré pour les maladies génétiques monogéniques (dues à un seul gène) chez le Chien. De façon générale :

- un individu affecté est généralement issu de parents non affectés (alors appelés porteurs sains),
- on observe une fréquence plus élevée de la maladie dans le cas de mariages consanguins,
- les 2 sexes sont affectés dans les mêmes proportions,
- les 2 sexes transmettent la maladie de façon équivalente,
- lors d'un accouplement entre deux animaux porteurs sains, statistiquement 25% de la portée sera atteinte.

La difficulté avec ces maladies réside dans le fait que les parents des individus concernés sont souvent asymptomatiques. On ne peut donc prévoir l'apparition de chiots malades que si on connaît le génotype des 2 parents (sont-ils totalement indemnes ou porteurs sains ?). Ces maladies sont presque toutes à pénétrance complète (tous les individus qui possèdent 2 allèles délétères sont atteints).

2.3. Transmission récessive liée à l'X

Les maladies ou caractères récessifs liés à l'X sont déterminés par un gène causal qui est porté par le chromosome X et dont l'allèle responsable est récessif. Les maladies récessives liées à l'X ont donc besoin de la présence de 2 copies de l'allèle délétère pour s'exprimer chez les femelles (qui sont XX) et d'une seule copie chez les mâles (qui sont XY). De façon générale :

- ces maladies affectent de façon beaucoup plus fréquente les mâles que les femelles,
- les mâles atteints naissent généralement de parents indemnes ; la mère est alors un individu porteur asymptomatique (femelle dite conductrice),
- il n'y a pas de transmission d'un individu mâle à un individu mâle dans le pedigree,
- les chiots mâles issus d'une femelle conductrice ont un risque de 50% d'être atteints,
- les rares femelles atteintes sont issues du croisement d'un mâle atteint et d'une femelle conductrice.

2.4. Transmission dominante lié à l'X

Les maladies ou caractères dominants liés à l'X sont déterminés par un gène causal qui est porté par le chromosome X et dont l'allèle responsable est dominant. Les maladies dominantes liées à l'X ont donc besoin de la présence d'une seule copie de l'allèle délétère pour s'exprimer chez les femelles (qui sont XX) et chez les mâles (qui sont XY). De façon générale :

- ces maladies affectent les mâles et les femelles, mais les femelles plus fréquemment que les mâles,
- cependant, les mâles sont souvent plus sévèrement atteints que les femelles,
- mâles et femelles transmettent la maladie,
- un mâle atteint transmet la maladie à 100% de ses filles mais à aucun de ses fils,
- une femelle atteinte transmet la maladie à 50% de ses filles et à 50% de ses fils.

2.5. Transmission polygénique

Les maladies ou caractères polygéniques sont déterminés par plusieurs gènes. On ne connaît malheureusement pas le nombre de ces gènes ni leur force respective dans le déterminisme génétique de la maladie. Il y a donc apparition erratique de malades dans les portées sans que l'on puisse prédire le pourcentage de chiots atteints, connaissant le statut clinique des parents. Les maladies et caractères polygéniques sont également fortement influencés par les paramètres d'environnement qui interagissent avec les gènes en cause. L'exemple type de maladie polygénique chez le Chien est la dysplasie coxo-fémorale.

2.6. Transmission maternelle

Les maladies génétiques ou caractères génétiques de transmission maternelle sont déterminés par un gène causal qui est porté par l'ADN mitochondrial. L'ADN mitochondrial ne se trouve pas dans le noyau des cellules sous forme de chromosomes, mais à l'intérieur de petits organites cellulaires appelés mitochondries. Lors de la fécondation, seules les mitochondries de la mère sont transmises à l'embryon. C'est pourquoi les mutations de l'ADN mitochondrial ne sont transmises que par les mères. Ce mode de transmission est extrêmement rare.

3- Méthodes de recherche de gènes/mutations responsables de maladies génétiques

Le développement de cartes du génome canin depuis les années 90, le séquençage du génome du chien en 2005, l'identification et la sélection de centaines de milliers de marqueurs

généétiques et l'utilisation très récente de puces à ADN permettent maintenant, l'identification de gènes ou de régions chromosomiques impliquées dans les maladies héréditaires canines simples et complexes. En 25 ans, la connaissance du génome du chien est passée d'un stade rudimentaire à un excellent niveau et les outils dédiés à la génétique canine sont maintenant équivalents à ceux de la recherche biomédicale humaine.

Afin de rechercher le gène et la mutation responsables d'une maladie héréditaire, il convient de disposer de différents matériels :

- des prélèvements ADN (sang ou frottis buccaux) de chiens atteints et sains de la race concernée,
- des prélèvements ADN de chiens contrôles de différentes races
- des informations de pedigrees,
- un diagnostic précis et complet pour chaque chien atteint et sain de la race concernée.

Une fois le mode de transmission de la maladie mis en évidence, à l'aide de l'analyse des pedigrees des chiens atteints, la recherche du/des locus en cause dans la maladie est entreprise. Deux types d'analyse existent : les études pangénomique dans lesquelles aucune hypothèse n'est faite concernant le gène en cause, et les études dites « gène candidat » pour lesquelles on postule qu'un gène pourrait être impliqué dans la maladie (car impliqué par exemple dans une maladie similaire dans une autre espèce) et où l'objectif est de confirmer ou infirmer le postulat de départ.

L'analyse pangénomique se base sur l'étude d'individus sains et atteints par la maladie. Les individus sont génotypés pour un ensemble de marqueurs génétiques répartis de façon homogène sur tous les chromosomes. L'objectif est de mettre en évidence un allèle d'un marqueur qui serait associé (étude d'association) ou lié (étude de liaison) à la maladie. Il est ensuite nécessaire de déterminer la relation de causalité entre la présence d'un allèle associé/lié à la maladie, et la maladie elle-même. Cette dernière étape passe par l'analyse moléculaire de la protéine codée, ainsi que par l'étude des mécanismes physiopathologiques mis en jeu.

Les études pangénomiques se distinguent en deux sous-types d'études :

- Les études d'association (également appelées cas/témoin), pour lesquelles une cohorte d'animaux atteints par la maladie (cas) et une cohorte d'animaux sains (témoins), non directement apparentés, sont génotypés ;
- les études de liaison, qui étudient la ségrégation familiale des allèles et nécessitent donc de disposer de familles sur plusieurs générations.

L'identification de gènes et de mutations impliqués dans les maladies héréditaires canines permet de mieux comprendre l'origine et la physiopathologie de ces maladies, mais également le développement de tests génétiques directement utilisables par les vétérinaires et les éleveurs. Il devient ainsi possible de réduire la prévalence de certaines maladies, dans les effectifs raciaux.

4- Comment participer à un projet de recherche ?

Pour développer les travaux de recherche et étendre les cohortes, une banque d'ADN de chien a été développée par le CNRS-Rennes, en collaboration avec le laboratoire ANTAGENE et les 4 écoles vétérinaires de France. Cette banque CaniDNA contient des prélèvements (sang, tissus) de chiens de toutes races, sains ou atteints de maladies génétiques, accompagnés d'informations généalogiques. Elle fait partie d'un consortium national, CRB-Anim qui est un Centre de Ressources Biologiques concernant les animaux domestiques ou à intérêt agronomique. Le CRB-Anim est financé par l'Agence Nationale pour la Recherche (ANR-11-INBS-0003) dans le cadre du programme "investissements d'avenir" et permet uniquement la mise en banque des prélèvements et leur mise à disposition pour les projets de recherche. Cani-DNA : <http://canidna.univ-rennes1.fr/index2.php>

LES TESTS GÉNÉTIQUES DE DIAGNOSTIC ET DE DÉPISTAGE

1- Que permet un test ?

Les tests peuvent être utilisés pour le diagnostic des maladies héréditaires. Dans ce cas, le test génétique est un examen complémentaire comme les autres (radiographie, dosage biochimique), permettant d'aboutir au diagnostic. Il peut permettre, par exemple, d'exclure une maladie héréditaire des différentes hypothèses diagnostiques et d'orienter alors vers l'utilisation d'autres examens coûteux qui n'auraient pas été indiqués en première intention (scanner, imagerie par résonance magnétique : IRM).

Cependant, l'utilisation principale des tests génétiques est le dépistage. Tout d'abord, les tests génétiques permettent le dépistage des individus atteints, avant la survenue des symptômes, dans le cas des maladies dominantes à pénétrance incomplète et des maladies d'apparition tardive quel que soit leur mode de transmission. Le dépistage permet alors un meilleur suivi vétérinaire du chien et, si nécessaire et disponible, la mise en place d'un traitement précoce. Le dépistage permet également d'éviter les accouplements à risque et la naissance de chiots qui seront atteints.

De plus, les tests génétiques permettent le dépistage des individus porteurs sains, dans le cas des maladies récessives. Ils permettent ainsi d'éviter les accouplements à risque et la naissance de chiots qui développeront la maladie.

Il faut bien distinguer ces tests génétiques concernant des maladies héréditaires de l'identification génétique : cette dernière permet d'établir une empreinte génétique, unique pour chaque animal, de différencier des animaux, même très apparentés et de vérifier les parentés. Le système, équivalent aux empreintes génétiques utilisées chez l'homme, repose sur un ensemble de marqueurs génétiques offrant un grand nombre de variations ou polymorphismes. Cette empreinte génétique est infalsifiable, sans équivoque et les marqueurs testés ne sont pas modifiés au cours de la vie de l'individu. La vérification de parenté s'effectue en comparant les empreintes génétiques des parents à celles du chiot ou chaton, chaque animal possédant un patrimoine génétique provenant à part égale de sa mère et de son père. Elle ne donne aucun renseignement sur la race ou le statut génétique de l'animal pour une maladie.

2- Intérêts et limites

Le résultat du test est confidentiel et valable à vie. Cependant, un test génétique n'est bien souvent valable que pour une race donnée. En effet, la plupart des maladies héréditaires canines sont spécifiques de races et les mutations identifiées dans une race ne sont pas transposables à une autre race, même très proche. Ainsi, on connaît, pour la narcolepsie canine (trouble du sommeil et de la vigilance) trois mutations différentes, du même gène, chacune spécifique d'une race canine. Ainsi le Teckel, le Doberman et le Labrador, trois races atteintes de narcolepsie héréditaire, possèdent chacune leur propre test génétique de dépistage qui détecte la mutation propre à chaque race. De même, les atrophies progressives de la rétine (APR ou PRA en anglais pour progressive retinal atrophy), présentes dans de nombreuses races canines, sont dues à des mutations différentes, dans des gènes différents.

Ainsi, il existe un test génétique pour l'APR du Setter Irlandais (appelé rcd1-PRA), un test pour l'APR du Springer Anglais (appelé cord1-PRA), un test pour l'APR du Cocker Anglais (appelé prcd-PRA), par exemple. Le test du Setter Irlandais n'est pas valable pour le Springer Anglais ni pour le Cocker. Il s'agit de mutations différentes dans des gènes différents.

D'autre part, un test génétique détecte une mutation, pas une maladie : il n'est donc valable que pour une maladie génétique donnée et ne renseigne pas sur le statut du chien concernant les autres formes acquises (ou héréditaires) de la même maladie. Ainsi, un chien détecté indemne (homozygote sain) par un test génétique spécifique d'une mutation responsable de cataracte, ne développera pas la cataracte héréditaire pour laquelle il a été testé, mais peut développer une cataracte acquise, non héréditaire.

De plus un test peut comporter une imprécision surtout s'il s'agit d'un test indirect (test par marqueurs associés). Remarquons cependant que tous les tests commercialisés en France, chez le chien, sont des tests directs (détection directe de la mutation causale), extrêmement fiables, possédant une sensibilité et une spécificité proches de 100%.

3- Réalisation pratique

Différents types de prélèvements sont réalisables pour faire exécuter un test génétique. Le frottis buccal reste la méthode de choix : simple à effectuer, rapide, indolore, il permet d'obtenir de l'ADN en quantité suffisante pour la réalisation d'un ou plusieurs tests. Le prélèvement sanguin (5 à 10 millilitres de sang total) permet d'obtenir de plus grandes quantités d'ADN.

Il est généralement préféré pour les étapes de recherche. Il est également possible d'exploiter l'ADN issu de semence (sperme congelé), de biopsies ou de prélèvements anatomopathologiques (petit morceau de tissu résultant d'une chirurgie par exemple). Le vétérinaire doit authentifier le prélèvement avant l'envoi au laboratoire qui exécutera le test. Il vérifie l'identité du chien (puce ou tatouage) et réalise le frottis buccal ou la prise de sang.

Ainsi, le certificat génétique, établi par le laboratoire ayant effectué le test, peut servir de garantie lors de la vente d'un chiot ou lors d'échanges de reproducteurs entre éleveurs. Le

document certifie le statut génétique du chien, pour la mutation dépistée. Plusieurs laboratoires proposent des tests ADN canins en France. Le choix du laboratoire pourra dépendre du type de prélèvement requis, du tarif de l'analyse, du temps moyen d'analyse et du service fournis (conseil aux vétérinaires, aux éleveurs).

4- Et ensuite ?

Les tests génétiques de diagnostic et de dépistage permettent de lutter efficacement contre les maladies héréditaires canines. Ils permettent de mettre en place des plans de lutte à l'échelle des lignées ou des races, dont les buts sont d'éviter l'apparition de malades et diminuer (jusqu'à annuler) la fréquence de l'allèle délétère dans la lignée ou la race concernée.

Les modalités de mise en place d'un plan de lutte contre une maladie héréditaire dépendent, entre autres, de la gravité des symptômes, du mode de transmission de la maladie, de la sensibilité et de la spécificité du test, des contraintes d'élevage telles que l'effectif de la race, et de la fréquence de la mutation causale. Il est donc nécessaire de raisonner au cas par cas.

Cependant, la lutte contre les maladies héréditaires ne doit pas se faire au détriment des qualités de chaque race. L'élimination des maladies génétiques doit se faire progressivement, dans le cadre d'une politique globale de gestion de la race. Il est déconseillé de sélectionner uniquement sur des critères négatifs tels que les maladies héréditaires : le travail de sélection positive des éleveurs est primordial. Ainsi, dans tous les cas, le plan de lutte doit préserver le potentiel et la diversité génétique de la race concernée.