

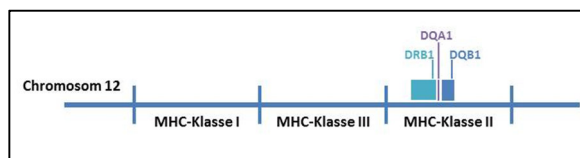
## DLA-Haplotypenbestimmung beim Labrador Retriever in Show- und Arbeitslinie

Bei der Rasse der Labrador Retriever finden sich zwei unterschiedliche Zuchtlinien, die Showlinie und die Arbeitslinie. Erstere wird gezüchtet um hervorragende Show-Ergebnisse zu erzielen, während zweite häufig in Jägerkreisen zu finden ist, die einen brauchbaren Hund für die Niederwildjagd benötigen. Im Zuge des Pilotprojektes wurden die DLA-Klasse II Gene *DLA-DRB1*, *DLA-DQA1* und *DLA-DQB1* in der Arbeits- und Showlinie des Labrador Retrievers (LR) ermittelt. Diese Gene spielen nicht nur eine wichtige Rolle in der Immunabwehr, sondern stellen auch einen frühen Indikator für einen Verlust der genetischen Diversität als Folge von Inzucht dar. Ziel war die Bestimmung der DLA-Haplotypen innerhalb der Zuchtlinien, sowie mögliche neue Assoziationen mit Erkrankungen herzustellen. An der Studie nahmen insgesamt 84 Hunde aus Österreich, Deutschland und der Schweiz teil. Die Probanden wurden in die Gruppen Show- und Arbeitslinie bzw. Sonstige, sofern es sich um Dual Purpose handelte oder keine Angaben zur Linie gemacht wurden, eingeteilt. Insgesamt konnten 8 *DRB1* Allele, 5 *DQA1* Allele und 7 *DQB1* Allele ermittelt werden. In den getesteten Hunden wurden 11 verschiedene Haplotypen nachgewiesen. Der häufigste Haplotyp der Showlinie kommt in einer verhältnismäßig geringen Zahl von Arbeitslinienhunden vor und umgekehrt. Ein Anteil von 72,6% der typisierten LR ist heterozygot und 15,5% homozygot. Beinahe drei Viertel der homozygoten Hunde stammen aus der Showlinie, während sich der restliche Anteil auf die Arbeitslinie bzw. Sonstige aufteilt. Die Auswertung der erhobenen Daten im Fragebogen und der ermittelten Haplotypenergebnisse bringen erste Hinweise auf eine mögliche Assoziation zwischen Klasse II DLA-Genen und Futtermittelallergien beim LR. Anhand der Studie konnten wir zeigen, dass es deutliche Unterschiede in den DLA-Genen zwischen den beiden Zuchtlinien, sowie in der genetischen Diversität, gibt.

### Einleitung

#### Das Immunsystem - Ein Segen solange es funktioniert!

Das Immunsystem ist ein komplexes biologisches Netzwerk, das den Körper vor unzähligen gefährlichen Situationen beschützt. Es ist in der Lage Bakterien, Viren, fremde Substanzen oder fehlerhaft gewordene Zellen zu erkennen und unschädlich zu machen. Eine zentrale Rolle spielen die Gene des sogenannten Major Histocompatibility Complex (MHC). Es gibt drei Klassen von MHC-Genen, Klasse I, II und III, die unterschiedliche Funktionen in der Immunabwehr einnehmen. Die Produkte dieser Gene, die MHC-Proteine, befinden sich auf der Oberfläche von Zellen und können als Reaktion auf Eindringlinge komplexe Immunantworten auslösen.



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung der MHC Bereich auf Hundechromosom 12. Ein definierter Bereich entspricht MHC II mit den Genen *DLA-DRB1*, *DLA-DQA1* und *DLA-DQB1*.

Zahlreiche wissenschaftliche Arbeiten beim Menschen haben gezeigt, dass bei Erkrankungen die im Zusammenhang mit dem Immunsystem stehen, eine starke Verbindung zu den Genen der MHC II Klasse gegeben ist. Es handelt sich dabei um sogenannte komplexe Erkrankungen, die durch ein Zusammenspiel verschiedener Gene entstehen. Jedes beteiligte Gen trägt in unterschiedlichem Ausmaß zur Entstehung bei. Fünfzig Prozent des genetischen Risikos für komplexe Erkrankungen beim Menschen stammen von den MHC-Genen. Das Vorhanden-

sein bestimmter Genkombinationen kann die Wahrscheinlichkeit erhöhen, eine bestimmte Erkrankung zu entwickeln.

Ähnlich ist es bei unseren Hunden. Hier ist ebenfalls ein Zusammenhang zwischen MHC und Autoimmunerkrankungen gegeben. Zu diesen zählen unter anderem Schilddrüsenunterfunktionen, Diabetes, anale Furunkulose, immunvermittelte hämolytische Anämie etc. Auch hier handelt es sich um komplexe Erkrankungen, bei denen zahlreiche Gene und das Mitwirken von Umweltfaktoren für ihre Entstehung entscheidend sind. Solche Umweltfaktoren können vielfach vorangegangene Virusinfektionen sein, mit denen das Immunsystem konfrontiert wurde. Durch eine Überreaktion von Zellen des Immunsystems werden nicht nur Viren eliminiert, sondern auch Zellen des eigenen Körpers angegriffen, was in Autoimmunerkrankungen resultieren kann.

#### So vielfältig könnte das Leben sein

Innerhalb der MHC II Klasse beim Hund liegt ein Bereich mit den sogenannten Dog Leucocyte Antigens oder kurz DLAs (siehe **Abbildung 1**). Sie sind in der frühen Phase der Immunabwehr wichtig, wenn der Körper mit fremden Eindringlingen konfrontiert wird. Die DLAs enthalten drei sehr variable, sogenannte hoch polymorphe Gene, die als *DLA-DRB1*, *DLA-DQA1* und *DLA-DQB1* bezeichnet werden. Davon gibt es zahlreiche verschiedene Varianten, sogenannte Allele die in unterschiedlichsten Hunderassen identifiziert wurden. Von *DLA-DRB1* sind mittlerweile 250 Allele, von *DLA-DQA1* 45 und von *DLA-DQB1* 120 Allele bekannt. Eine hohe Bandbreite an Variabilität in den Genen ist von größter Notwendigkeit. Nur so sind Lebewesen in

der Lage auf möglichst viele Infektionen und wechselnde Umweltbedingungen reagieren zu können. Die Gene werden im Dreierpaket zusammenhängend vererbt, wobei eines von der Mutter und eines vom Vater stammt. Diese Kombinationen werden als Haplotypen bezeichnet, von denen bis heute beim Hund mehr als 300 unterschiedliche bekannt sind. Heterozygote Individuen besitzen zwei unterschiedliche und homozygote Individuen zwei gleiche Haplotypen.

### DLAs aus heutiger Sicht

Betrachtet man die heutigen Hunderassen aus der Sicht der Haplotypen, so steht jeder Rasse nur mehr eine eingeschränkte Auswahl zur Verfügung. Im Allgemeinen wird davon ausgegangen, dass im Schnitt eine Rasse 5 Haplotypen besitzt, die mit einer unterschiedlichen Häufigkeit vorkommen. So gibt es typischerweise unter diesen 5 Kombinationen eine mit einer sehr hohen Häufigkeit, die 50% bis 70% der Hunde einer Rasse besitzen. Meist sind noch 2 Haplotypen mit einer Frequenz von 20% und einer oder zwei mit einer sehr geringen Häufigkeit von 1% bis 5% gegeben. Ein extremes Beispiel stellt der Rottweiler dar, bei dem bisher nur 2 Haplotypen mit einer Häufigkeit von 48% und 52% nachgewiesen werden konnten (Kennedy *et al.* 2012).

### Hetero- und Homozygotie - Ein trauriges Beispiel aus der Praxis

Heterozygotie in den DLA-Genen resultiert in einer höheren Resistenz gegenüber Infektionen. Studien zur genetischen Vielfalt in den Immungenen wurden nicht nur bei Hunden durchgeführt, sondern auch bei wild lebenden Tieren wie Wölfe oder Füchse. Es gibt Hinweise, dass eine Mindestzahl von Haplotypen notwendig ist, um ein langfristiges Überleben einer Population zu ermöglichen. Ist nur eine sehr limitierte Anzahl vorhanden, besteht für eine Population oder Spezies eine erhöhte Gefahr, dass das Auftreten einer neuen Erkrankung zur Auslöschung führt. Ein Beispiel hierfür ist die Untersuchung der DLA-Gene bei einer Population arktischer Füchse auf einer abgeschiedenen Insel in Russland (Ploshnitsa *et al.* 2012). Im Jahr 1741 wurden die Polarfüchse auf der Insel Mednyi erstmals beschrieben. Zu diesem Zeitpunkt waren die Tiere in einer großen Population vorhanden und wurden wegen ihres hervorragenden Fells gejagt. Die Population wurde aufgrund eines Räudebefalls 1918 stark dezimiert. Bis heute haben sich die Tiere kaum erholt, zeigen noch immer eine hohe Infektionsrate mit Parasiten und besitzen eine schlechte Fellqualität. Sie alle haben die gleichen Kombinationen in den DLA-Genen. Eine ähnliche Population von Polarfüchsen auf einer benachbarten Insel wurde und ist mit den gleichen Parasiten konfrontiert. Diese aber wächst und gedeiht. Sie besitzen im Gegenzug eine hohe genetische Vielfalt in den DLA-Genen und scheinen dadurch eine höhere Resistenz gegen Räude zu haben.

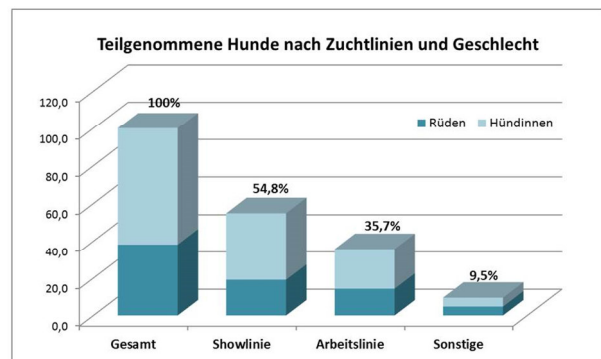
### Ziel der Studie

Im Zuge der Studie, sollte die genetische Vielfalt der MHC-Gene beim Labrador Retriever aus der Arbeits- und Showlinie untersucht werden. Der Fokus der analysierten Gene wurde dabei auf die DLAs der Klasse II gelegt. Es sollte ermittelt werden, wie viele verschiedene Haplotypen in der heutigen Labrador Retriever Population noch gegeben sind und ob es Unterschiede zwischen den Zuchtlinien gibt. Anhand des Fragebogens zur allgemeinen Gesundheit der teilnehmenden Hunde sollten Assoziationen zwischen Haplotypen und Erkrankungen analysiert werden.

### Ergebnisse

#### Teilgenommene Hunde

An der Pilotstudie nahmen Labrador Retriever aus Österreich, Deutschland und der Schweiz teil. Laut Zuordnung der Hundebesitzer stammten 54,8% aus der Showlinie und 35,7% aus der Arbeitslinie. Alle Hunde die eine Abstammung sowohl aus der Show- wie auch aus der Arbeitslinie (Dual Purpose) hatten oder bei denen keine Angaben zur Linie gemacht wurde, wurden in einer eigenen Gruppe (Sonstige) mit 9,5% zusammengefasst. In **Abbildung 2** ist der prozentuelle Anteil der Hunde inklusive der Anteile an Hündinnen und Rüden pro Zuchtlinie dargestellt. Insgesamt nahmen 61,9% Hündinnen und 38,1% Rüden teil. Innerhalb der Showlinie entfällt der Anteil der Hündinnen auf 65,2% und der Rüden auf 34,8%. In der Arbeitslinie sind 60% Hündinnen und 40% Rüden zu finden. Die Gruppe mit den nicht zugeordneten Hunden besteht zu 50% aus Hündinnen und 50% aus Rüden.



**Abbildung 2:** Einteilung der teilgenommenen LR laut Angaben der Besitzer. Zusätzlich dargestellt sind der Gesamtanteil von Hündinnen und Rüden, sowie die Anteile innerhalb der jeweiligen Zuchtlinie.

#### Ermittelte DLA-Allele beim Labrador Retriever

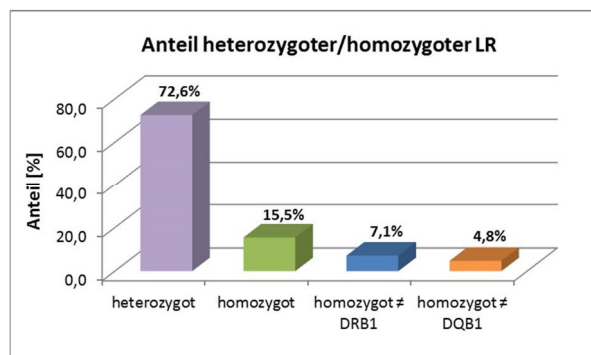
Insgesamt konnten 8 DRB1 Allele, 5 DQA1 Allele und 7 DQB1 Allele ermittelt werden (siehe **Tabelle 1**). Diese werden unterschiedlich kombiniert und in sogenannten Haplotypen (HAP), bestehend aus den 3 DLA-Genen DLA-DRB1, DLA-DQA1 und DLA-DQB1 an die nachfolgenden Generationen weitergegeben. Neue Allele konnten im Zuge des Projektes nicht identifiziert werden.

DLA-DRB1 Allele	DLA-DQA1 Allele	DLA-DQB1 Allele
001:01	001:01	002:01
006:01	005:01:1	007:01
008:02	003:01	004:01
008:03	004:01	013:03
012:01	006:01	013:03/017:01
015:01		020:01
015:02		023:01
020:01		

**Tabelle 1:** Identifizierte DLA-Allele der Klasse II.

### Hetero- und Homozygotie

Idealerweise besitzen Mutter und Vater unterschiedliche Haplotypen. So kann in den Nachkommen eine maximale genetische Vielfalt erreicht werden. Von den getesteten Hunden wurde der prozentuelle Anteil aller Tiere ermittelt, die in Bezug auf die DLA-Haplotypen heterozygot, homozygot, homozygot mit unterschiedlichen DLA-DRB1 Allelen und homozygot mit unterschiedlichen DLA-DQB1 Allelen sind (siehe **Abbildung 3**). Mit 72,6% ist der größte Anteil der getesteten Hunde heterozygot, besitzt also zwei unterschiedliche Genkombinationen. Homozygot sind 15,5% mit zwei völlig gleichen Haplotypen, während 7,1% bzw. 4,8% partiell homozygot sind, da sie sich in den DLA-DRB1 (z.B. DLA-DRB1\*015:01 in Haplotyp 1 und DLA-DRB1\*015:02 in Haplotyp 2) oder DLA-DQB1-Allelen (z.B. DLA-DQB1\*007:01 in Haplotyp 1 und DLA-DQB1\*020:01 in Haplotyp 2) voneinander unterscheiden.



**Abbildung 3:** Hetero- und Homozygotie in den DLA-Genen. Dargestellt ist der prozentuelle Anteil von getesteten Hunden der heterozygot, homozygot, homozygot mit unterschiedlichen DLA-DRB1 Allelen (homozygot ≠ DRB1) und homozygot mit unterschiedlichen DLA-DQB1 Allelen (homozygot ≠ DQB1) ist.

### Haplotypen und ihre Häufigkeiten

Die Haplotypen wurden ausgehend von homozygoten Hunden mit zwei gleichen Genkombinationen bestimmt. Anschließend wurden die DLA-Allele der heterozygoten Tiere kombiniert. In **Tabelle 2** sind alle Haplotypen aufgelistet, die bei den Studienteilnehmern ermittelt werden konnten. Zusätzlich dargestellt ist der Anteil der Hunde, bei denen die Haplotypen in heterozygoter bzw. homozygoter Form vorkommen. Deutlich zu erkennen ist, dass der weitaus größte Anteil homozygoter Tiere HAP7 (Haplotyp 7) aufweist. Ein geringer prozentueller Anteil zeigt auch bei HAP1, HAP2 und HAP10 eine Homozygotie.

Eine Gesamtdarstellung der DLA Klasse II Haplotypen, unabhängig ob diese homozygot oder heterozygot vorliegen, ist in **Abbildung 4** gegeben.

Haplotyp Nr.	DRB1 Allele	DQA1 Allele	DQB1 Allele	LR [%] heterozygot	LR [%] homozygot
HAP 1	001:01	001:01	002:01	19,0	1,2
HAP 2	006:01	005:01:1	007:01	28,6	1,2
HAP 3	006:01	005:01:1	020:01	10,7	
HAP 4	008:02	003:01	004:01	2,4	
HAP 5	008:03	003:01	004:01	1,2	
HAP 6	012:01	004:01	01303	6,0	
HAP 7	012:01	004:01	013:03/017:01	34,5	9,5
HAP 8	015:01	006:01	023:01	22,6	
HAP 9	015:02	004:01	023:01	2,4	
HAP 10	015:02	006:01	023:01	31,0	3,6
HAP 11	020:01	004:01	013:03	10,0	

**Tabelle 2:** Haplotypen beim Labrador Retriever. Insgesamt wurden 11 verschiedene Haplotypen in den getesteten Hunden ermittelt. Dargestellt in % ist der Anteil der Hunde bei denen der Haplotyp heterozygot bzw. homozygot vorliegt.

Bei den getesteten Labrador Retriever konnten insgesamt 11 Haplotypen festgestellt werden (siehe **Tabelle 2**). Dabei unterscheiden sich diese mehr oder weniger stark voneinander. Das bedeutet, dass beispielsweise HAP1 vollständig unterschiedlich ist zu HAP2. Vergleicht man aber HAP2 mit HAP3 lässt sich erkennen, dass die ersten beiden Zahlen gleich sind und nur ein Unterschied in der dritten Zahl, also dem DQB1-Allel gegeben ist.

Noch deutlicher wird es bei einem Vergleich von HAP4 und HAP5. Hier ist der Unterschied sehr gering, genauer gesagt liegt dieser an einer einzelnen Position in der DNA des DRB1-Allels. Prinzipiell gilt, je unterschiedlicher umso besser.

Eine Besonderheit beim Labrador Retriever stellt HAP7 dar, bei dem zwei DQB1-Allele 013:03/017:01 in einem Haplotyp gegeben sind. Hier dürfte es zu einer Verdoppelung des DQB1-Gens gekommen sein. Dies wurde bisher nur bei einer geringen Anzahl von Hunderassen festgestellt. Wir sind ursprünglich bei unseren Typisierungen davon ausgegangen, dass entweder DLA-DQB1\*013:03 oder DLA-DQB1\*017:01 vorliegt, aber nicht beide gleichzeitig. Genauere Analysen haben allerdings gezeigt, dass das Allel DLA-DQB1\*017:01 immer in Kombination mit DLA-DQB1\*013:03 ist umgekehrt aber DLA-DQB1\*013:03 durchaus auch alleine vorliegen kann. Zusätzlich bestätigt wurden diese Ergebnisse durch verwandte Hunde, die diese Genkombinationen ebenfalls zeigten sowie durch Rücksprache mit Dr. Lorna Kennedy von der Universität Manchester.

Wir konnten 5 Hunde mit HAP6 finden, bei denen DLA-DQB1\*013:03 nicht mit DLA-DQB1\*017:01 vorliegt. Dieser kommt in der Rasse der Labrador Retriever relativ selten vor. Beim Golden Retriever gehört HAP6 zum am häufigsten vertretenen Haplotyp.

Eine weiterer Sonderfall ist HAP9 mit der Kombination DLA-DRB1\*015:02/DLA-DQA1\*004:01/DLA-DQB1\*023:01. Hier wäre

anstelle von DLA-DQA1\*004:01 die Variante DLA-DQA1\*006:01 zu erwarten gewesen. Diese Kombination konnte in 2 nicht-verwandten Hunden unabhängig nachgewiesen werden. Bekannt ist diese Kombi laut derzeitigem Literaturstand nur von Mischlingshunden.

In **Abbildung 4** sind die Häufigkeiten der Haplotypen dargestellt, unabhängig davon ob diese homozygot oder heterozygot vorkommen. Drei davon sind beim Labrador Retriever mit einer Häufigkeit von 30% bis 44% zu finden. Zwei Haplotypen wurden bei 20% bzw. 21% der getesteten Hunde nachgewiesen, während die Restlichen zwischen 1% und 10% liegen. Bei dieser Darstellung wird auch nicht zwischen den einzelnen Zuchtlinien unterschieden. Eine genauere Aufgliederung diesbezüglich ist in **Tabelle 3** zu finden.

**Häufigkeit von DLA-Klasse II Haplotypen in den einzelnen Zuchtlinien**

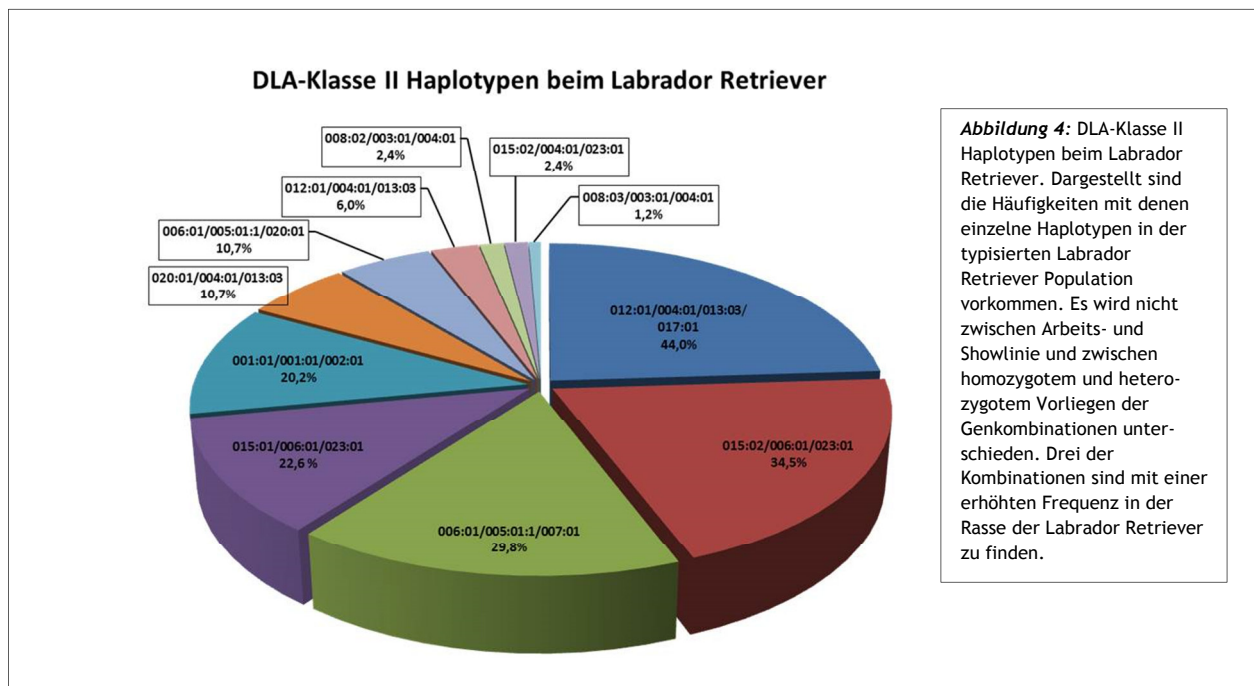
Anhand eines Vergleichs der ermittelten Haplotypen sollte festgestellt werden, ob Kombinationen in einer Zuchtlinie tendenziell häufiger vorkommen als in der Anderen (siehe **Tabelle 3**). In der Arbeitslinie ist DLA-DRB1\*006:01/DLA-DQA1\*005:01:1/DLA-DQB1\*007:01 mit 23,3% am häufigsten zu finden, während in der Showlinie mit 33,7% DLA-DRB1\*012:01/DLA-DQA1\*004:01/DLA-DQB1\*013:03/017:01 am stärksten vertreten ist. In der kleinen Gruppe der „Sonstigen“ ist ebenfalls DLA-DRB1\*012:01/DLA-DQA1\*004:01/DLA-DQB1\*013:03/017:01 mit 56% dominierend. Mit annähernd gleicher Häufigkeit ist die Kombination DLA-DRB1\*015:02/DLA-DQA1\*006:01/DLA-DQB1\*023:01 bei allen drei Gruppen vorhanden. Was das Bild der Haplotypenhäufigkeiten etwas verzerrt, ist dass viele verwandte Hunde an der Studie teilgenommen haben. Es ist anzunehmen, dass die Verteilung der Häufigkeiten bei zu-

Haplotyp Nr.	Haplotyp	Showlinie [%]	Arbeitslinie [%]	Sonstige [%]
HAP 1	001:01/001:01/002:01	12,0	8,3	12,5
HAP 2	006:01/005:01:1/007:01	12,0	<b>23,3</b>	6,3
HAP 3	006:01/005:01:1/020:01	2,2	10,0	6,3
HAP 4	008:02/003:01/004:01	1,1	1,7	
HAP 5	008:03/003:01/004:01		1,7	
HAP 6	012:01/004:01/013:03	2,2	5,0	
HAP 7	012:01/004:01/013:03/017:01	<b>33,7</b>	8,3	<b>56,3</b>
HAP 8	015:01/006:01/023:01	8,7	18,3	
HAP 9	015:02/004:01/023:01	1,1	1,7	
HAP 10	015:02/006:01/023:01	20,7	16,7	18,8
HAP 11	020:01/004:01/013:03	6,5	5,0	

**Tabelle 3:** Haplotypen nach Zuchtlinien. Häufigster Haplotyp (fett markiert) der Showlinie und der Gruppe der Sonstigen unterscheidet sich deutlich von der Arbeitslinie.

fällig gewählten nicht-verwandten Hunden etwas abweichend ist.

Anhand der Ergebnisse lässt sich zeigen, dass sich unterschiedliche Haplotypen in den beiden Zuchtlinien durchgesetzt haben und mit einer erhöhten Präsenz vertreten sind. Dies mag durchaus auf einen unterschiedlichen Selektionsdruck zurückzuführen sein. Eine interessante wissenschaftliche Studie von Pedersen (Pedersen *et al.* 2013) hat einen Vergleich der genetischen Diversität zwischen sogenannten Asiatischen „Village Dogs“ (sich frei vermehrende Mischlings-Straßenhunde) und Show- sowie Arbeitslinien von 8 verschiedenen Hunderassen angestellt. Dabei hat sich gezeigt, dass die wildlebenden Hunde die höchste genetische Vielfalt besitzen und Hunde der Showlinien die Geringste. Jene aus den Arbeitslinien haben sich genetisch betrachtet in der Mitte eingeordnet. Eine Einschränkung der genetischen Diversität konnte im



**Abbildung 4:** DLA-Klasse II Haplotypen beim Labrador Retriever. Dargestellt sind die Häufigkeiten mit denen einzelne Haplotypen in der typisierten Labrador Retriever Population vorkommen. Es wird nicht zwischen Arbeits- und Showlinie und zwischen homozygotem und heterozygotem Vorliegen der Genkombinationen unterschieden. Drei der Kombinationen sind mit einer erhöhten Frequenz in der Rasse der Labrador Retriever zu finden.



Vergleich auch für die DLA-Region bestätigt werden. Ein Verlust von DLA-Genvarianten ist laut Autor ein erstes Anzeichen für einen Verlust der genetischen Vielfalt durch Inzucht. Wildlebende Hunde zeigten eine deutlich höhere Heterozygotie in den DLA-Genen, mit verhältnismäßig wenigen Tieren die homozygote Haplotypen aufwiesen, sowie ein deutlich ausbalancierteres Vorkommen von Genvarianten. Beim Vergleich der Arbeits- mit den Showlinien konnte bei Hunden der Arbeitslinien eine höhere genetische Vielfalt festgestellt werden als bei jenen der Showlinien.

Vergleicht man nun die Ergebnisse der Pedersen-Arbeit mit unserer Studie, so lassen sich gewisse Parallelen erkennen. Die Arbeitslinie zeigt eine ausgeprägtere Verteilung der Haplotypen verglichen mit der Showlinie, bei der zwei sehr dominante Haplotypen vertreten sind. Des Weiteren gibt es Unterschiede was die Heterozygotie zwischen den beiden Zuchtlinien betrifft. Von allen homozygot typisierten Labrador Retriever stammen annähernd 3/4 aus der Showlinie während sich der restliche Anteil auf die Gruppe der Arbeitslinie und Sonstige aufteilt. Die homozygoten Hunde zeigen auch hier den am häufigsten vorliegenden Haplotyp DLA-DRB1\*012:01/DLA-DQA1\*004:01/DLA-DQB1\*013:03/017:01.

Eine im ersten Schritt logische Schlussfolgerung wäre, jene Haplotypen durch gezielte Verpaarung zu erhöhen, die in sehr geringer Häufigkeit vorkommen. Bezüglich dieser Thematik gibt es zahlreiche Diskussionen in der wissenschaftlichen Gemeinschaft. Der Grund liegt darin, dass wir derzeit nicht einschätzen können, mit welchen Konsequenzen eine Erhöhung der Frequenz von seltenen Haplotypen in den Rassen verbunden ist. Vielleicht gibt es einen Grund, warum diese nicht stärker vertreten sind? Vielleicht ist der häufigere Haplotyp bis dato der gesündere? Oder die Tiere sind durch ein sogenanntes „Bottleneck“ gegangen, wodurch eine Vielzahl der Hunde mit den nunmehr weniger häufigen Haplotypen stark dezimiert wurde? Auch wenn wir auf die Fragen derzeit keine expliziten Antworten geben können, so ist es Fakt, dass die Heterozygotie der Tiere sehr wohl eine entscheidende Rolle spielt. Wie bereits erwähnt zeigen heterozygote Tiere eine weitaus bessere Immunantwort und können sich gegenüber Infektionen effizienter zur Wehr setzen. Heterozygotie in den DLA-Genen ist aber nicht nur wichtig in der Immunabwehr, sondern auch in der Partnerwahl. Bei Menschen (Wedekind *et al.* 1995), Säugetieren wie Mäusen (O'Dwyer & Nevitt 2009) aber auch Fischen (Kurtz *et al.* 2004) und Vögeln (Suter *et al.* 2007) haben Untersuchungen gezeigt, dass Frauen/Weibchen präferentiell jene Partner für die Fortpflanzung wählen, die einen unterschiedlichen MHC-Typus aufweisen. So kann gewährleistet werden, dass die Nachkommen eine möglichst vielfältige Genausstattung bekommen und das Überleben der Jungtiere gesichert ist. In diesem Fall spricht man vom sogenannten Heterozygotenvorteil. Es handelt sich dabei um ein Phänomen, dass dazu führt, dass Individuen mit bestimmten heterozygoten Genorten einen

größeren Fortpflanzungserfolg haben, verglichen mit Homozygoten. Dieser Vorteil ist auch dafür verantwortlich, dass eine Genvielfalt in Lebewesen erhalten bleibt, weil ihnen dadurch ein Überlebensvorteil verschafft wird. Basierend auf unseren Ergebnissen und den verschiedensten wissenschaftlichen Erkenntnissen, scheint es daher vernünftig, neben den bisherigen züchterisch relevanten Faktoren auch die DLA-Gene künftig in die Zuchtplanung miteinzubeziehen. So besteht die Chance eine maximale genetische Vielfalt in den Immungenen der Nachkommen zu erreichen.

### Assoziation von DLA-Haplotypen mit Erkrankungen

Im Zuge des Pilotprojektes wurden verschiedenste Daten zur allgemeinen Gesundheit der teilnehmenden Labrador Retriever erhoben. Angaben zu Hauterkrankungen, Stoffwechselstörungen und Bewegungsapparat wurden für weitere Auswertungen herangezogen.

### Hauterkrankungen - Allergien

Allergien bei Hunden haben in den letzten Jahren in stark zugenommen. Leider gibt es keine verlässlichen Statistiken, aber Schätzungen zu Folge liegt der Allergikeranteil bei bis zu 20%.

Bei Allergien kommt es zu einer Überreaktion des Immunsystems auf an sich harmlose Stoffe. Es wird häufig kein Unterschied gemacht, ob es sich um pflanzliche, tierische oder chemische Verbindungen handelt. Hat das Immunsystem einmal eine Abwehrreaktion gestartet, wird bei jedem weiteren Kontakt eine allergische Reaktion erfolgen. Die Auslöser sind ähnliche Stoffe wie beim Menschen. Dazu zählen Allergene aus der Luft wie Pollen und Gräser, Hausstaubmilben, Schimmelpilzsporen oder auch Hautschuppen anderer Tiere. Immer häufiger kommt es aber auch zu Reaktionen mit Inhaltsstoffen von Futtermitteln wie tierisches Protein vom Huhn, Lamm, Rind oder Ei bzw. Milchprodukten. Eher seltener liegen Kontaktallergien vor, bei denen Pflanzen, Duftstoffe oder Pflegeprodukte wie Shampoos oder Salben zu allergischen Reaktionen führen. Häufig entwickeln sich auch sogenannte Kreuzallergien. In diesem Fall reagieren die Tiere auf alle möglichen Auslöser egal ob sie aus der Umwelt oder vom Futter kommen.

Im Fragebogen wurden vermehrt Futtermittelallergien von den Tierbesitzern angeführt, weshalb diese Gruppe für weitere statistische Auswertungen herangezogen wurde. Aus Forschungsarbeiten im Humanbereich sind Haplotypen bekannt, die mit Pollen- (Madore *et al.* 2013) oder Lebensmittelallergien (Knapp *et al.* 2012) in Verbindung stehen. Tatsächlich konnten 2 Haplotypen ermittelt werden, die unter Umständen mit Futtermittelallergien in Zusammenhang gebracht werden können. Die Haplotypen mit den Kombinationen DLA-DRB1\*001:01/DLA-DQA1\*001:01/DLA-DQB1\*002:01 und DLA-DRB1\*012:01/DLA-DQA1\*004:01/DLA-DQB1\*013:03/017:01 wurden mit einer erhöhten Häufigkeit bei Hunden mit angegebenen Allergien gefunden. Für beide wurden Odds Ratio (OR) berechnet.

Für Ersteren liegt das OR bei 2,9, was bedeutet, dass ein Hund mit diesem Haplotypen eine 2,9-fach höhere Chance besitzt an einer Futtermittelallergie zu erkranken, verglichen mit einem Hund der diesen nicht hat. Für den zweiten Haplotypen wurde ein OR von 2,0 ermittelt. Die Chance einer Futtermittelallergie liegt hier 2,0-fach höher als bei Kontrollhunden ohne Allergie (siehe **Tabelle 4**).

Haplotyp	OR	95% KI
<b>001:01/001:01/002:01</b>	2,9	0,70 bis 8,16
<b>012:01/004:01/013:03/017:01</b>	2,0	0,76 bis 5,27

**Tabelle 4:** Vorläufige Ergebnisse deuten auf 2 Haplotypen hin, die potentiell mit Futtermittelallergien beim LR im Zusammenhang stehen könnten. Berechnung der Odds Ratio (OR) und Konfidenzintervalle (KI) erfolgten nach Woolf (Woolf 1955).

Es gilt zu beachten, dass es sich hierbei um vorläufige Ergebnisse handelt und diese aufgrund der zu geringen Stichprobenzahl (Anzahl an Allergiehunden) als statistisch nicht gesichert angesehen werden können. Hierfür wäre eine Folgestudie mit einer vielfach höheren Probandenzahl und medizinisch gesicherten Allergiediagnosen notwendig! Nichts desto trotz, liefern die Ergebnisse einen ersten Anhaltspunkt dafür, dass die angeführten Genkombinationen möglicherweise bei Allergikern einen genetischen Beitrag leisten. Aufgrund der steigenden Zahl von Allergiehunden und dem derzeit fehlenden Informationsstand wäre eine gezielte Studie mit Allergiepatienten von höchster wissenschaftlicher Relevanz.

#### **Stoffwechselstörungen:**

Bei drei Hunden wurden Angaben zu einer Schilddrüsenunterfunktion gemacht, wobei es sich bei zwei Hunden um Geschwister handelte. Es ist bekannt, dass das Vorhandensein der Genvariante DLA-DQA1\*001:01 mit einem erhöhten Risiko für Schilddrüsenunterfunktionen assoziiert ist (Kennedy *et al.* 2006). Dieser Haplotyp konnte in den beiden verwandten Tieren allerdings nicht nachgewiesen werden. Neben der autoimmunen Schilddrüsen-unterfunktion sind aber noch andere Ursachen bekannt, die zu einer Fehlfunktion führen können. Dazu zählen angeborene Fehlentwicklungen aber auch erworbene Schilddrüsenunterfunktionen beispielsweise hervorgerufen durch Entzündungen der Schilddrüse, Operationen, Medikamente, Störungen der Hirnanhangsdrüse (diese steuert die Schilddrüse) etc. Das Vorliegen einer anderen genetischen Komponente ist bei den beiden verwandten Tieren nicht auszuschließen. Bei einem dritten unabhängigen Labrador Retriever konnte die Genvariante DLA-DQA1\*001:01 bestätigt werden.

#### **Bewegungsapparat:**

Im Bereich Bewegungsapparat wurden bei 12 Hunden Angaben zu Gelenksabnutzungen bzw. Versteifungen der Wirbelsäule gemacht. Mit Ausnahme eines Hundes lag das Alter bei  $\geq 6$  Jahren, sodass davon auszugehen ist, dass die Abnutzungserscheinung aufgrund einer vermehrte Arbeitsleistung bzw. dem fortgeschrittenen Alter der Tiere

gegeben ist. Eine Beteiligung der DLA-Gene wäre bei entzündlichen Prozessen wie im Fall von Arthritis zu erwarten.

#### **Zusammenfassung:**

DLA-Gene sind wichtiger Teil des Immunsystems und eine hohe genetische Vielfalt in diesen führt zu einer effizienteren Immunabwehr. Im Zuge der Studie wurden die DLA-Gene des Labrador Retriever analysiert. Dabei zeigten sich bemerkenswerte Unterschiede zwischen den Zuchtlinien was das Auftreten der Haplotypen betrifft. Genkombinationen in den getesteten Hunden liefern möglicherweise auch neue Hinweise auf Allergien. Erste Ergebnisse deuten auf einen Zusammenhang zwischen bestimmten DLA-Haplotypen und einer Futtermittelallergie beim Labrador Retriever hin. Um diese auch tatsächlich bestätigen zu können, wären weitere Testungen von einer größeren Anzahl diagnostizierter Allergiehunde notwendig. Allergien stellen zunehmend Probleme bei unseren Hunden dar. Es gibt bereits im Humanbereich zahlreiche Beispiele von Genkombinationen die bei Pollen- und Lebensmittelallergien eine entscheidende Rolle spielen. Eine Folgestudie wäre von höchster Relevanz, da einerseits Allergien bei Hunden immer gehäuft auftreten und andererseits in der wissenschaftlichen Literatur beim Hund hierzu derzeit keine Informationen gefunden wurden. Anhand unserer Ergebnisse und der zahlreichen wissenschaftlichen Untersuchungen die uns zur Verfügung stehen, scheint es also Vernünftig neben verschiedenen züchterisch relevanten Merkmalen auch die DLA-Gene in die Zuchtplanung miteinzubeziehen. Denn sie sind unter anderem ausschlaggebend für die Gesundheit und die Fitness eines Lebewesens, also die Eignung mit gegebenen Umweltbedingungen zurecht zu kommen und auf gefährdende Einflüsse angemessen reagieren zu können.

#### **Danksagung:**

Wir möchten uns ganz herzlich bei unseren Studienteilnehmern bedanken, die uns Probenmaterial ihrer Hunde zur Verfügung gestellt haben. Des Weiteren bei Frau Dr. Irene Sommerfeld-Stur (Professorin für Tierzucht u. Genetik), die uns mit konstruktiven Vorschlägen und Informationen unterstützte und bei Dr. Lorna Kennedy (Universität Manchester) die uns in Typisierungsfragen hilfreich zur Seite stand. Unser Dank gilt auch dem Österreichischen Retriever Club sowie der labradorcommunity.de für die Veröffentlichung unseres DLA-Artikels, dank welchem sich zahlreiche Studienteilnehmer bei uns gemeldet haben.

#### **Autorin:**

Frau Mag. Dr. Anja Geretschläger studierte Molekularbiologie und Genetik an der Universität Salzburg und ist Geschäftsführerin der Firma FERAGEN. In ihrem Labor für genetische Veterinärdiagnostik beschäftigt sie sich mit der Forschung und Entwicklung zuchtrelevanter genetischer Diagnostik und biogenetischer Analysen.

#### **Kontaktdaten:**

FERAGEN e.U.  
Mag. Dr. Anja Geretschläger  
Jakob-Haringer-Straße 5A/IV  
A - 5020 Salzburg  
Tel.: +43 (0) 662 / 45 45 55 - 439  
E-Mail anja.geretschlaeger@feragen.at

### Literaturverweis:

- Kennedy L.J., Ollier W.E.R., Marti E., Wagner J.L. & Storb R.F. (2012) Canine Immunogenetics. In: *The genetics of the dog* (eds. by Ostrander EA & Ruvinsky A), p. 521. CAB Intl.
- Kennedy L.J., Quarmby S., Happ G.M., Barnes A., Ramsey I.K., Dixon R.M., Catchpole B., Rusbridge C., Graham P.A., Hillbertz N.S., Roethel C., Dodds W.J., Carmichael N.G. & Ollier W.E. (2006) Association of canine hypothyroidism with a common major histocompatibility complex DLA class II allele. *Tissue Antigens* **68**, 82-6.
- Knapp B., Fischer G., Van Hemelen D., Fae I., Maillere B., Ebner C., Schreiner W., Bohle B. & Jahn-Schmid B. (2012) Association of HLA-DR1 with the allergic response to the major mugwort pollen allergen: molecular background. *BMC Immunol* **13**, 43.
- Kurtz J., Kalbe M., Aeschlimann P.B., Haberli M.A., Wegner K.M., Reusch T.B. & Milinski M. (2004) Major histocompatibility complex diversity influences parasite resistance and innate immunity in sticklebacks. *Proc Biol Sci* **271**, 197-204.
- Madore A.M., Vaillancourt V.T., Asai Y., Alizadehfar R., Ben-Shoshan M., Michel D.L., Kozyrskij A.L., Becker A., Chan-Yeung M., Clarke A.E., Hull P., Daley D., Sandford A.J. & Laprise C. (2013) HLA-DQB1\*02 and DQB1\*06:03P are associated with peanut allergy. *Eur J Hum Genet* **21**, 1181-4.
- O'Dwyer T.W. & Nevitt G.A. (2009) Individual odor recognition in procellariiform chicks: potential role for the major histocompatibility complex. *Ann N Y Acad Sci* **1170**, 442-6.
- Pedersen N., Liu H., Theilen G. & Sacks B. (2013) The effects of dog breed development on genetic diversity and the relative influences of performance and conformation breeding. *J Anim Breed Genet* **130**, 236-48.
- Ploshnitsa A.I., Goltsman M.E., Macdonald D.W., Kennedy L.J. & Sommer S. (2012) Impact of historical founder effects and a recent bottleneck on MHC variability in Commander Arctic foxes (*Vulpes lagopus*). *Ecol Evol* **2**, 165-80.
- Suter S.M., Keiser M., Feignoux R. & Meyer D.R. (2007) Reed bunting females increase fitness through extra-pair mating with genetically dissimilar males. *Proc Biol Sci* **274**, 2865-71.
- Wedekind C., Seebeck T., Bettens F. & Paepke A.J. (1995) MHC-dependent mate preferences in humans. *Proc Biol Sci* **260**, 245-9.
- Wolf B. (1955) On estimating the relation between blood group and disease. *Ann Hum Genet* **19**, 251-3.