

**VETAGRO SUP  
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2013 - Thèse n°

***L'ATROPHIE PROGRESSIVE DE LA RETINE CHEZ LE  
CHIEN : CONTRIBUTION A L'ETUDE GENETIQUE CHEZ LE  
BORDER COLLIE***

**THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 25 octobre 2013  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*OLIVIER Amandine*  
Née le 14 décembre 1987  
à Moulins (03)



VetAgro Sup





# Liste du corps enseignant

Civilité	Nom	Prénom	Unités pédagogiques	Grade
M.	ALOGNINOUIWA	Théodore	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Professeur
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	ARTOIS	Marc	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BARTHELEMY	Anthony	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	BECKER	Claire	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	BELLI	Patrick	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
Mme	BELLUCO	Sara	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	Unité pédagogique Equine	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	BERNY	Philippe	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BOULOCHER	Caroline	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	BOURDOISEAU	Gilles	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	BRUYERE	Pierre	Unité pédagogique Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences Contractuel
M.	BUFF	Samuel	Unité pédagogique Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences
M.	BURONFOSSE	Thierry	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	CACHON	Thibaut	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
M.	CADORE	Jean-Luc	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	CAROZZO	Claude	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	CHABANNE	Luc	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	COMMUN	Loic	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences Stagiaire
Mme	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	DEMONT	Pierre	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	DESJARDINS PESSON	Isabelle	Unité pédagogique Equine	Maître de conférences Contractuel
Mme	DJELOUADJI	Zorée	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	ESCRIOU	Catherine	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	FAU	Didier	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	FOURNEL	Corinne	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
M.	FRANCK	Michel	Unité pédagogique Gestion des élevages	Professeur
M.	FREYBURGER	Ludovic	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	GILLOT-FROMONT	Emmanuelle	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	GRAIN	Françoise	Unité pédagogique Gestion des élevages	Professeur
M.	GRANCHER	Denis	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	GUERIN	Pierre	Unité pédagogique Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Professeur
Mme	GUERIN-FAUBLEE	Véronique	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	HUGONNARD	Marine	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	JUNOT	Stéphane	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	KECK	Gérard	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	KODJO	Angeli	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAABERKI	María-Halima	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences Stagiaire
M.	LACHERETZ	Antoine	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAMBERT	Véronique	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	LEBLOND	Agnès	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Unité pédagogique Equine	Maître de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	Unité pédagogique Equine	Professeur

Civilité	Nom	Prénom	Unités pédagogiques	Grade
Mme	LOUZIER	Vanessa	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	MARCHAL	Thierry	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
Mme	MIALET	Sylvie	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Inspecteur en santé publique vétérinaire (ISPV)
Mme	MICHAUD	Audrey	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences Stagiaire
M.	MOUNIER	Luc	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
M.	PEPIN	Michel	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	PIN	Didier	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PONCE	Frédérique	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PORTIER	Karine	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Stagiaire
Mme	PROUILLAC	Caroline	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
Mme	REMY	Denise	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	ROGER	Thierry	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	SABATIER	Philippe	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	SEGARD	Emilie	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	SERGENTET	Delphine	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	SONET	Juliette	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
M.	THIEBAULT	Jean-Jacques	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	VIGUIER	Eric	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothee	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
M.	ZENNER	Lionel	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur

# **Remerciements**

## **A Monsieur le Professeur Calender**

De la Faculté de Médecine de Lyon

Qui nous a fait l'honneur de bien vouloir présider notre jury de thèse

Hommages respectueux

## **A Madame le Professeur Grain**

De VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon

Pour nous avoir fait l'honneur d'encadrer ce travail,

Sincères remerciements

## **A Monsieur le Professeur Cadoré**

De VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon

Pour nous avoir fait l'honneur de juger ce travail

Tous nos remerciements

## **A Madame le Docteur André**

De l'UMR 6290 équipe « génétique du chien »

Pour nous avoir proposé ce sujet de thèse et accueilli chaleureusement au sein de son équipe

Qu'elle trouve ici le témoignage de notre reconnaissance



**A Monsieur le Docteur Chaudieu**

Vétérinaire pratiquant l'ophtalmologie en clientèle privée

Pour sa gentillesse et sa disponibilité

Qu'il trouve ici le témoignage de notre admiration

**A Madame le Docteur Quignon**

De l'UMR 6290 équipe « génétique du chien »

Pour nous avoir encadré, pour avoir accepté de relire et corriger ce travail

Qu'elle reçoive nos remerciements les plus sincères

A l'ensemble des membres de l'équipe « génétique du chien »

De l'UMR 6290, CNRS/Université de Rennes1,

Et en particulier au Dr Lafont,

Merci pour votre accueil, vos conseils et toutes les connaissances que vous m'avez apportées

A l'Association française du Border Collie (AFBC),

A l'ensemble des propriétaires et éleveurs de Border Collie,

Merci pour votre implication dans ce projet



# Table des Matières

<b>Introduction.....</b>	<b>19</b>
<b>I. Etude Bibliographique.....</b>	<b>21</b>
A. Anatomie, Physiologie et Méthodes d'examen de l'œil.....	21
1. Anatomie .....	21
2. Physiologie rétinienne .....	27
3. Méthodes de dépistage des maladies héréditaires oculaires canines (MHOC) .....	33
B . Le Border Collie .....	39
1. Présentation de la race .....	39
2. Les principales maladies oculaires héréditaires du Border Collie.....	44
C. L'atrophie progressive de la rétine chez le chien .....	49
1. Généralités.....	49
2. Classification.....	49
3. Historique .....	50
4. Description des différents types d'APR .....	51
5. L'APR chez le Border Collie .....	56
D.Détermination du mode de transmission et d'identification d'une anomalie génétique .....	57
1. Détermination du mode de transmission d'une maladie génétique par l'étude du pédigrée .	57
2. Le génome canin .....	65
3. Méthodes d'identification des causes génétiques de maladies.....	68
<b>II. Etude expérimentale .....</b>	<b>73</b>
A. Contexte de l'étude.....	73
B. Matériels et Méthodes .....	74
1. Base de données de certificats de dépistage des MHOC.....	74
2. Etude généalogique .....	76
3. Etude génétique d'association .....	77
4. Analyse d'un gène candidat .....	78
C. Résultats .....	86
1. Concernant la base de données de certificats de dépistage des MHOC .....	86
2. Etude de l'arbre généalogique.....	87
3. Etude génétiques d'association .....	93
4. Recherche et étude d'un gène candidat .....	96
D. Discussion .....	101
1. Concernant la base de données des certificats de dépistage des MHOC.....	101
2. Etude généalogique .....	102

3.	Etude génétique d'association et choix d'un gène candidat.....	103
4.	Séquençage du gène ABCG1 .....	104
5.	Quels conseils donner à l'éleveur ?.....	104
6.	Apport du modèle canin dans la recherche de gènes responsables de maladies humaines .	105
	<b>Conclusion.....</b>	<b>107</b>
	Glossaire.....	109
	Annexe : Examen de confirmation du Border Collie.....	113
	Bibliographie.....	117

# Table des figures

<u>Figure 1</u> : Structure du globe oculaire et de ses annexes.....	21
<u>Figure 2</u> : Structure tri-neuronale de la rétine.....	25
<u>Figure 3</u> : Structure d'un photorécepteur en bâtonnet.....	28
<u>Figure 4</u> : Organisation tri-neuronale de la rétine.....	29
<u>Figure 5</u> : La transduction visuelle.....	32
<u>Figure 6</u> : Rétinographie : Fond d'œil normal.....	37
<u>Figure 7</u> : Un Border Collie.....	39
<u>Figure 8</u> : Standard du Border Collie.....	41
<u>Figure 9</u> : Grille de sélection du Border Collie.....	44
<u>Figure 10</u> : Rétinographie : Fond d'œil d'un Border Collie atteint.....	56
<u>Figure 11</u> : Mode de transmission des maladies autosomiques récessives.....	58
<u>Figure 12</u> : Mode de transmission des maladies autosomiques dominantes.....	59
<u>Figure 13</u> : Mode de transmission des maladies autosomiques dominantes à pénétrance incomplète.....	60
<u>Figure 14</u> : Mode de transmission des maladies récessives liées à l'X.....	61
<u>Figure 15</u> : Mode de transmission des maladies dominantes liées à l'X.....	62
<u>Figure 16</u> : Mode de transmission des maladies liées à l'Y.....	62
<u>Figure 17</u> : Exemples de pédigrées établis selon le protocole de Lasley.....	64
<u>Figure 18</u> : Caryotype du chien.....	65
<u>Figure 19</u> : Certificat international de dépistage des maladies héréditaires oculaires canines.....	75
<u>Figure 20</u> : Liens de parenté entre les individus testés.....	80
<u>Figure 21</u> : Une portion de la généalogie.....	88
<u>Figure 22</u> : Etude d'une portion de notre arbre généalogique.....	89
<u>Figure 23</u> : Génotype dans le cas d'une transmission liée au chromosome Y.....	89
<u>Figure 24</u> : Génotype dans le cas d'une transmission autosomale dominante.....	90
<u>Figure 25</u> : Génotype dans le cas d'une transmission autosomale récessive.....	90
<u>Figure 26</u> : Génotype dans le cas d'une transmission liée au chromosome X.....	91
<u>Figure 27</u> : Pédigrée de la famille I.....	92
<u>Figure 28</u> : Pédigrée de la famille II.....	93
<u>Figure 29</u> : Résultats de l'étude d'association incluant 74 chiens.....	95
<u>Figure 30</u> : Schéma du gène ABCG1 et position des exons.....	98



# **Table des tableaux**

<u>Tableau I</u> : Bilan des mutations génétiques connues responsables d'APR.....	55
<u>Tableaux II</u> : Résultats de l'étude génétique d'association sur 74 chiens.....	94
<u>Tableaux III</u> : Caractéristiques des gènes dans les régions les plus statistiquement significatives.....	97
<u>Tableau IV</u> : Caractéristiques des amorces pour le gène ABCG1.....	99
<u>Tableau V</u> : Résultats du séquençage du gène ABCG1.....	100

Les figures 10, 11, 12 et 13 sont issus d'un article publié dans Pratique Médicale et Chirurgicale des animaux de Compagnie et sont reproduites ici avec leur autorisation.



# Abréviations

ABCG1 : “ATP-binding cassette sub-family G member 1”

A, C, G, T : A : adénine, C : Cytosine, G : Guanine et T : Thymin

ADAM 9 : “A Disintegrin And Metalloproteinase Domain 9”

ADAMTS17 : “A Disintegrin-Like And Metalloprotease (Reprolysin Type) With Thrombospondin Type 1 Motif 17”

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AFBC : Association Française du Border Collie

Ag S : Antigène S

AOC : Anomalie de l’Œil du Colley

APR (PRA) : Atrophie Progressive de la Rétine (“ Progressive Retinal Atrophy”)

BAC : “Bacterial Artificial Chromosome”

BEST 1 : “bestrophin 1”

CCDC66 : “coiled-coil domain containing 66”

Cd : “cone dysplasia”

CFA : chromosome de *Canis Familiaris*

CIS : “Confidence Intervals “

CLN5 : “ Ceroid-Lipofuscinosis, Neuronal 5 “

CNGB3 : “cyclic nucleotide gated channel beta 3”

cM : centiMorgans

Cnsb : “Congenital stationary night blindness”

CPRA : “ Central Progressive Retinal Atrophy “

ddNTP : didésoxyNucléotide Triphosphate

DL : Déséquilibre de liaison

dNTP : désoxyNucléotide TriPhosphate

ECVO : “European College of Veterinary Ophthalmologists”

EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétate

Erd : “ Early Retinal Degeneration “

ERG : Electrorétinographie

EST : “ Expressed Sequence Tag “

FCI : Fédération Cynologique Internationale

F : “ Forward “

FISH : “ Fluorescence In Situ Hybridization “

GDP : Guanosine Diphosphate  
GMPc : Monophosphate de Guanosine Cyclique  
GTP : Triphosphate de Guanosine  
HAT : Hypoxanthine Aminoptérine Thymidine  
HSF4 : “Heat Shock Transcription Factor 4”  
IBD : “Identity By Descent “  
IRBP : “Intra-Retinoïd-Binding Protein”  
kb : kilobase  
LOD : “Logarithm of odds”  
LOF : Livre des Origines Français  
Mb : Mégabase  
MHOC : Maladies Héritaires Oculaires Canines  
NHEJ1 : “Nonhomologous End-Joining Factor 1”  
NPHP4 : “nephronophthisis 4“  
OMIA : “Online Mendelian Inheritance in Animals”  
OMIN : “Online Mendelian Inheritance in Men”  
OR : “ Odds Ratio “  
pb : paire de bases  
PBS : “Phosphate-Buffered Saline”  
PCR : “Polymerase Chain Reaction”  
PDE : Phosphodiesterase  
Prcd : “Progressive rod cone degeneration”  
R : “Reverse”  
Rcd : “Rod-cone dysplasia”  
RD3 : “Retinal Degeneration 3“  
RH : “Radiation Hybrid”  
Rh : Rhodopsine  
Rh\* : Rhodopsine activée  
RHO : “ Rhodopsin “  
RPE65 : “ Retinal pigment epithelium-specific 65“  
RPGR : “retinitis pigmentosa GTPase regulator “  
SCC : Société Centrale Canine  
SNP : “Single Nucleotide Polymorphism”  
STK38L1 : “Serine/Threonine Kinase 38“  
TAN : Test d’Aptitude Naturelle

TK : Thymidine Kinase

T<sub>m</sub> : Température d'hybridation



# **Introduction**

A l'heure actuelle, 343 races différentes de chiens sont reconnues par la FCI (Fédération Cynologique Internationale) réparties en dix groupes selon leur morphologie et leurs aptitudes. Chaque race possède des caractères phénotypiques qui lui sont propres et pouvant être très variables d'une race à l'autre. La sélection sur des critères morphologiques, afin de se rapprocher au maximum du standard d'une race, a conduit à l'émergence de maladies à caractères héréditaires spécifiques d'une ou plusieurs races, par une augmentation du nombre de loci à l'état homozygote. L'apparition de ces maladies génétiques est due à la proximité sur un même chromosome, des gènes, en relation avec les critères morphologiques recherchés et des gènes responsables de ces maladies.

L'apparition des maladies génétiques est souvent due à un effet fondateur au sein d'une race, avec l'utilisation à de nombreuses reprises d'un reproducteur possédant les caractères morphologiques recherchés mais aussi porteur d'allèle(s) responsable(s) de la maladie. Certaines races sont aussi fondées sur un nombre très restreint d'individus.

Actuellement, 587 maladies génétiques canines différentes sont recensées dans la base des maladies génétiques mendéliennes OMIA (Online Mendelian Inheritance in Animals). Ces maladies concernent presque tous les organes et tissus, bien qu'elles affectent essentiellement les systèmes neuro-musculaire, cardio-vasculaire et la vision (atrophies rétiniennes, cataractes, luxation du cristallin...).

Le Border Collie est une race bergère d'origine britannique, introduit en France à la fin des années soixante, dont l'utilisation principale est la garde et la conduite des troupeaux qu'ils soient ovins, caprins ou bovins. Les propriétaires de Border Collie sont avant tout des utilisateurs et recherchent le chien le plus performant possible, celui-ci étant un véritable outil de travail. Plusieurs maladies génétiques sévissent au sein du cheptel français de Border Collie. Parmi elles, l'atrophie progressive de la rétine (ou APR) est une maladie atteignant la rétine et entraînant une cécité de nuit puis de jour à plus long terme.

Le diagnostic de l'APR chez le Border Collie, ne peut se faire que par un examen clinique ophtalmologique régulier, le mieux étant un examen annuel. L'expression de la

maladie est tardive et bien souvent un chien ne sera diagnostiqué qu'après avoir déjà reproduit. Ainsi, la détermination de la cause génétique de cette maladie et le développement d'un test génétique, permettrait de connaître le statut d'un chien vis-à-vis de la maladie (atteint, porteur ou sain), et ainsi d'écarter de la reproduction les individus atteints et de raisonner les accouplements avec des individus porteurs afin de ne plus produire de chiens atteints.

L'APR est également connue dans une centaine de races et sa cause génétique a pu être identifiée dans une trentaine de races (14 mutations différentes connues). Sa transmission se fait le plus souvent selon un mode autosomique récessif, mais des transmissions autosomiques dominantes et liées au chromosome X sont également connues dans certaines races. Chez le Border Collie, l'APR se transmettrait selon un mode récessif, lié au sexe de manière absolue.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail de thèse. Le but de notre recherche a été d'analyser les résultats des certificats de dépistage des maladies héréditaires oculaires de plus de 2000 Border Collie, de recruter de nouveaux Border Collie afin de compléter la généalogie existante et de contribuer à préciser la cause génétique de l'APR dans cette race.

Dans un premier temps, un rappel concernant l'anatomie et la physiologie de l'œil va être réalisé. Les principales caractéristiques des Border Collie et les maladies oculaires présentes dans cette race, et particulièrement l'APR seront présentées ensuite. Puis une description des outils actuellement disponibles pour la recherche des gènes responsables des maladies génétiques sera exposée.

Dans un second temps, sera exposé le travail de recherche que nous avons effectué au sein de l'équipe « génétique du chien » à l'UMR6290 à Rennes. Ce travail se décompose en quatre points : la création et l'analyse d'une base de données des certificats de dépistages des maladies héréditaires oculaires, une étude généalogique des chiens dont le laboratoire possède un échantillon sanguin, une étude génétique d'association et la recherche et l'étude d'un gène candidat.

# I. Etude Bibliographique

Cette étude bibliographique va consister en la présentation de l'anatomie, de la physiologie et des méthodes d'examen de l'œil du chien, organe atteint lors d'APR. Une présentation de la race étudiée, le Border Collie, sera ensuite réalisée, en s'intéressant plus particulièrement aux maladies oculaires héréditaires (dont fait partie l'APR) présentes dans cette race. Le dernier point traitera des méthodes de détermination du mode de transmission et d'identification d'une anomalie génétique.

## A. Anatomie, Physiologie et Méthodes d'examen de l'œil

L'œil est l'organe de la vision permettant l'intégration du signal visuel en un signal électrique avant de le transmettre à l'encéphale.

### 1. Anatomie ([30][65][74])

L'œil est formé de trois tuniques ayant une structure proche de celle du système nerveux central : une tunique fibreuse, une tunique vasculaire et une tunique nerveuse. Ces différentes tuniques renferment des milieux transparents (Figure1).

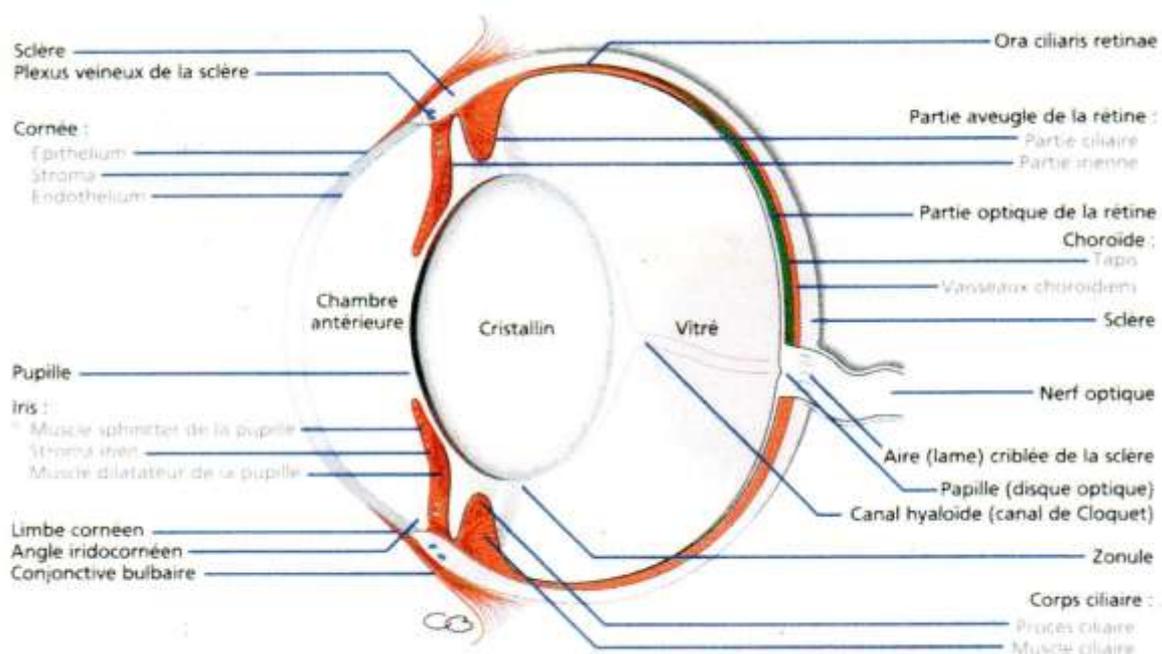


Figure 1 : Structure du globe oculaire et de ses annexes (d'après [38])

## a. Les tuniques de l'œil

### α. Tunique fibreuse

La tunique fibreuse est la plus externe. Elle se compose d'une partie antérieure transparente : la cornée, et d'une partie postérieure opaque formant la « coque » de l'œil : la sclère. La cornée et la sclère se rejoignent au niveau de la jonction cornéo-sclérale ou limbe cornéen.

- La cornée

La cornée recouvre la partie antérieure de l'œil, elle est circulaire et bombée. Elle se décompose de l'extérieur vers l'intérieur en :

- Un épithélium antérieur ou épithélium cornéen, formé d'une dizaine de couches de cellules épithéliales nucléées non kératinisées. Il est en continuité avec l'épithélium conjonctival. Les cellules pigmentées peuvent envahir l'épithélium conjonctival aboutissant à une kératite pigmentaire ;
- Une membrane basale ;
- Une substance propre de la cornée ou stroma cornéen composé de fibres de collagène organisées en lamelles parallèles et de fibroblastes baignant dans une substance fondamentale riche en glycosaminoglycanes ;
- Une lame limitante postérieure ou membrane de Descemet, qui sépare le stroma cornéen de l'épithélium postérieur de la cornée. Elle forme une basale très résistante chez l'adulte mais elle est mince et déformable chez le jeune ;
- Un épithélium postérieur ou endothélium cornéen, constitué d'une couche de cellules endothéliales constituant également l'épithélium crânial de la chambre antérieure de l'œil.

- La sclère

La sclère forme la coque postérieure de l'œil, d'épaisseur inégale. Elle présente des discontinuités au niveau du nerf optique, du passage des veines vortiqueuses, au contact du limbe cornéen et au niveau de l'angle irido-cornéen. La sclère donne attache au muscle ciliaire au niveau d'une partie épaissie de l'anneau scléral.

La sclère se compose de :

- La lame épisclérale, formée de tissu conjonctif lâche ;
- La substance propre de la sclère constituée d'un réseau de fibres de collagène ;
- La *lamina fusca* formée d'un tissu conjonctif lâche pigmenté plus riche en fibres élastiques.

### β. Tunique vasculaire

La tunique vasculaire de l'œil forme ce que l'on appelle l'uvée. C'est la membrane « porte vaisseaux » de l'œil irriguée par les artères ciliaires. Elle reçoit également une innervation sensitive et autonome via le nerf ciliaire (branche ophtalmique du nerf V). La tunique vasculaire se divise en trois parties : la choroïde, le corps ciliaire et l'iris.

- La choroïde

La choroïde correspond à la partie caudale de la tunique vasculaire, s'étend depuis l'*ora serrata* jusqu'à la papille optique. Son rôle est d'assurer la vascularisation des couches externes de la rétine et, dans la plupart des cas, de former un miroir réfléchissant en partie supérieure du fond d'œil (appelée zone du tapis).

La choroïde se compose de différentes couches, qui sont depuis l'extérieur vers l'intérieur :

- La lame suprachoroïdienne qui est continue avec la *lamina fusca* de la sclère ;
- L'espace périchoroïdien ;
- La lame vasculaire qui contient les ramifications des artères ciliaires postérieures, les racines des veines vortiqueuses et des espaces intervasculaires riches en glycosaminoglycanes. Ces vaisseaux se rejoignent dans la lame choroïdo-capillaire.
- La zone du tapis ou *Tapetum lucidum* se situe dans la moitié supérieure du fond d'œil. Il s'agit d'une zone cellulaire réfléchissante qui renvoie les rayons lumineux vers les bâtonnets ou les cônes pour les stimuler une seconde fois, permettant ainsi

d'améliorer la vision crépusculaire. La couleur du tapis diffère selon les espèces et les races : il varie du jaune au vert bleuté dans l'espèce canine ;

- La lame choroïdo-capillaire assure la nutrition des couches externes de la rétine.

- Le corps ciliaire

Le corps ciliaire constitue la partie moyenne de l'uvée, il est compris entre l'iris et la choroïde. Il est composé de 80 à 100 procès ciliaires (*pars plicata*) séparés par des vallées ciliaires et sécrétant l'humeur aqueuse, et du muscle ciliaire (*pars plana*).

- L'iris

L'iris est le diaphragme de l'œil, divisant l'espace entre la cornée et le cristallin en une chambre antérieure et une chambre postérieure communiquant par la pupille. La face antérieure de l'iris se compose d'un épithélium et d'une couche pigmentaire irienne lui donnant sa couleur. La face postérieure est composée d'un épithélium pigmentaire noir et épais formant la partie irienne de la rétine aveugle. On définit une grande circonférence de l'iris, zone s'étendant de l'angle irido-cornéen au muscle ciliaire, et une petite circonférence correspondant à la pupille.

Le muscle sphincter de la pupille, à médiation parasymphatique, entraîne le myosis par fermeture du diaphragme irien. A l'inverse, le muscle dilatateur de la pupille, à médiation orthosymphatique, provoque la mydriase.

L'angle irido-cornéen permet le passage de l'humeur aqueuse vers le plexus veineux de la sclère.

### γ. Tunique nerveuse

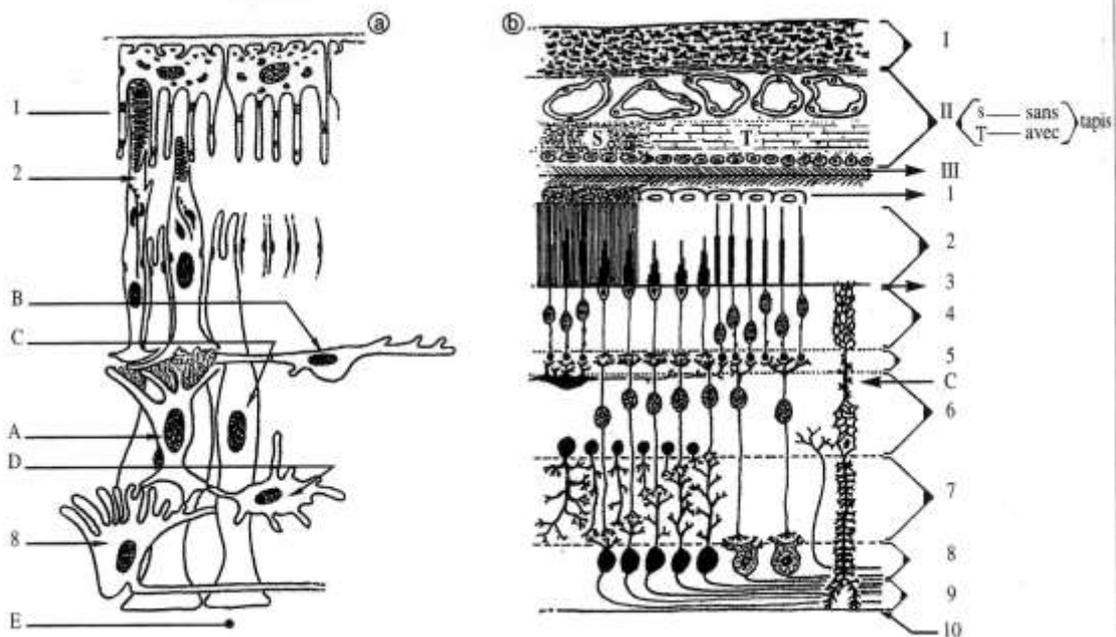
Appelée rétine, il s'agit de la tunique la plus interne du bulbe. Elle se compose d'une partie optique et d'une partie antérieure aveugle, séparées par l'*ora serrata*.

- Partie optique de la rétine

Elle recouvre la choroïde par laquelle elle est nourrie. Elle mesure de 0,12 mm d'épaisseur à sa périphérie jusqu'à 0,24 mm au niveau du disque optique. Elle est fragile et se décolle facilement.

Elle se compose de dix couches stratifiées (figure 2) dont :

- Une couche non vasculaire et sensorielle, constituée de cônes et de bâtonnets. Les cônes, situés surtout en partie centrale, sont responsables de l'acuité visuelle et de la perception des couleurs. Les bâtonnets, présents dans l'ensemble de la rétine, sont quant à eux responsables de la vision crépusculaire. Chez le chien, on trouve plus de bâtonnets que de cônes ;
- Une couche vasculaire et nerveuse avec deux étages de neurones : des neurones d'association (cellules bipolaires) et des cellules ganglionnées dont l'axone compose le nerf optique.



a) Organisation tri-neuronale de la rétine (d'après M. Doly).  
 b) Correspondance histologique (10 couches numérotées de 1 à 10).

- |                                       |                                         |                                       |
|---------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------|
| A) cellule bipolaire                  | 1. Epithélium pigmentaire               | 6. Couche des grains internes         |
| B) cellule horizontale                | 2. Bâtonnets et cônes (photorécepteurs) | 7. Plexiforme interne                 |
| C) cellule de Müller                  | 3. Limitante externe                    | 8. Couche des cellules ganglionnaires |
| D) cellule amacrine                   | 4. couche des grains externes           | 9. Fibres du nerf optique             |
| E) humeur vitrée                      | 5. Plexiforme externe                   | 10. Limitante interne                 |
| I) sclère                             |                                         |                                       |
| II) choroïde (vaisseaux, capillaires) |                                         |                                       |
| III) membrane de Bruch.               |                                         |                                       |

Figure 2 : Structure tri-neuronale de la rétine (d'après [23])

Le disque du nerf optique, ou papille optique est une légère dépression de forme variable (ronde à polygonale) qui mesure de 1 à 2 mm et qui correspond à la tache aveugle de l'Homme. Chez le chien, l'aire centrale ou, *area centralis*, se situe latéralement à la papille optique à environ 3mm de celle-ci. Elle est de forme ronde et est la zone la plus sensible de la rétine.

L'irrigation de la partie optique de la rétine se fait en général, via quatre artérioles (on peut en trouver jusqu'à huit) correspondant aux artères ciliaires courtes postérieures qui rayonnent à partir de la papille optique. On trouve des capillaires au niveau de la couche des grains internes puis ceux-ci se réfléchissent au niveau de la couche plexiforme externe. Enfin, le réseau de veinules est constitué de trois vaisseaux : un vaisseau dorsal, un vaisseau ventro-médial et un vaisseau ventro-latéral, auxquels peut se rajouter un vaisseau ventral chez environ 80% des chiens.

- Partie antérieure de la rétine

La partie antérieure de la rétine se situe en avant de l'*ora serrata*. A ce niveau on ne peut pas séparer la rétine de la tunique vasculaire, le tout formant une couche pigmentaire divisée en partie ciliaire et partie irienne.

#### b. Chambres et milieux de l'œil

Les chambres et milieux de l'œil sont des milieux transparents qui vont orienter les rayons lumineux pénétrant dans l'œil. En effet, chacun de ces éléments possède un pouvoir de réfraction différent ce qui entraîne une déviation des rayons lumineux lors de leur passage d'un milieu transparent à l'autre.

La chambre antérieure se situe entre la cornée et l'iris, elle communique avec la chambre postérieure du bulbe au niveau de la pupille. La chambre postérieure du bulbe est délimitée par l'épithélium postérieur de l'iris, la zonule et la face antérieure du cristallin. Ces deux chambres contiennent de l'humeur aqueuse, liquide sécrété par les cellules claires des corps ciliaires. L'humeur aqueuse circule au sein de la chambre postérieure puis de la chambre antérieure avant d'être drainée au niveau de l'angle irido-cornéen par le plexus veineux de la sclère. L'humeur aqueuse permet le maintien du tonus de l'œil et de la pression

intra-oculaire entre 10 à 25 mmHg chez le chien. Les chambres antérieure et postérieure représentent environ 9 % du volume du bulbe oculaire.

Le corps vitré est délimité par le cristallin, la zonule, l'orbicule ciliaire et la rétine optique. Il représente à lui seul près des 2/3 postérieurs du bulbe oculaire.

Le cristallin est une lentille convergente permettant la focalisation de l'image sur la rétine. Il intervient pour environ 1/3 dans la convergence des rayons lumineux, l'essentiel de la convergence étant assuré par la cornée.

La zonule est constituée de fibres zonulaires s'étendant depuis la couronne équatoriale de la capsule cristallinienne à la lame basale des procès et vallées ciliaires et jusqu'à l'orbicule ciliaire.

## **2. *Physiologie rétinienne***

### **a. Les photorécepteurs**

- **Ultrastructure**

Les photorécepteurs possèdent une origine et une structure différentes de celles habituellement rencontrées dans les autres récepteurs sensoriels. Il s'agit de neurones du système nerveux central différenciés en cellules sensorielles bipolaires (alors que pour les autres récepteurs sensoriels ce sont des cellules sensorielles épithéliales).[16]

Les photorécepteurs sont de forme allongée et contiennent deux parties distinctes reliées par un cil connecteur : l'article externe qui est le pôle récepteur photosensible et l'article interne correspondant à la partie métabolique du photorécepteur (figure 3).

L'article externe est formé d'un empilement d'environ 2000 disques parallèles entre eux et perpendiculaires au grand axe du photorécepteur. Ces disques contiennent des photopigments, le principal étant la rhodopsine, qui vont absorber les radiations lumineuses

suivant leur longueur d'onde, entraînant une modification chimique de la molécule absorbante.

Le segment interne contient, de l'extérieur vers l'intérieur du globe : les organites cellulaires (mitochondries, appareil de Golgi), le réticulum endoplasmique, le noyau. La terminaison synaptique terminale est située au contact des cellules bipolaires.

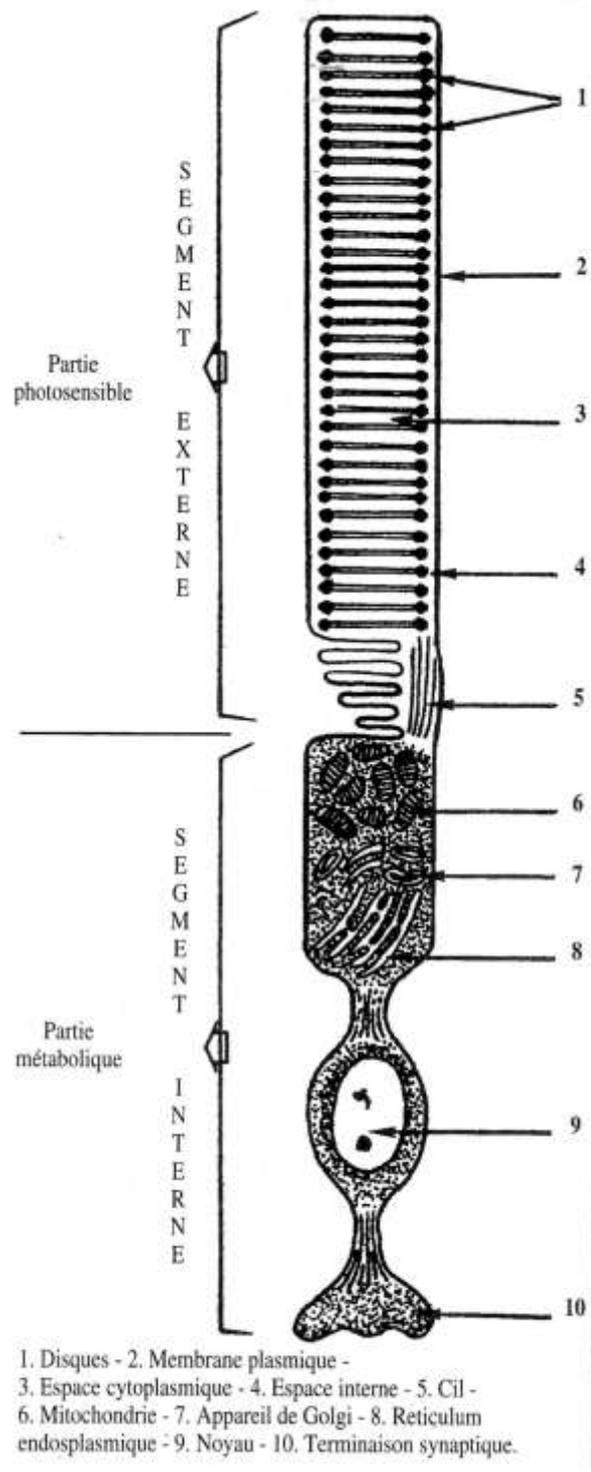


Figure 3 : Structure d'un photorécepteur en bâtonnet (d'après [23])

- Bâtonnets et cônes

Il existe deux types de photorécepteurs qui diffèrent par leur morphologie et leur gamme de sensibilité lumineuse : les bâtonnets et les cônes. Il n'existe qu'un seul type de bâtonnets et trois types de cônes selon la gamme de longueur d'onde qu'ils absorbent (bleu, vert ou jaune-orangé). [6]

Les bâtonnets sont sensibles aux basses luminances et les cônes aux hautes luminances. Ainsi, face à une intensité lumineuse importante l'activité des cônes sera plus importante que celle des bâtonnets.

Chez le chien, la rétine est adaptée à la vie nocturne, donc très riche en bâtonnets (18 bâtonnets pour 1 cône) [63]. Seule l'aire centrale ou *area centralis* (équivalent de la macula chez l'homme) est plus riche en cônes (figure 4).

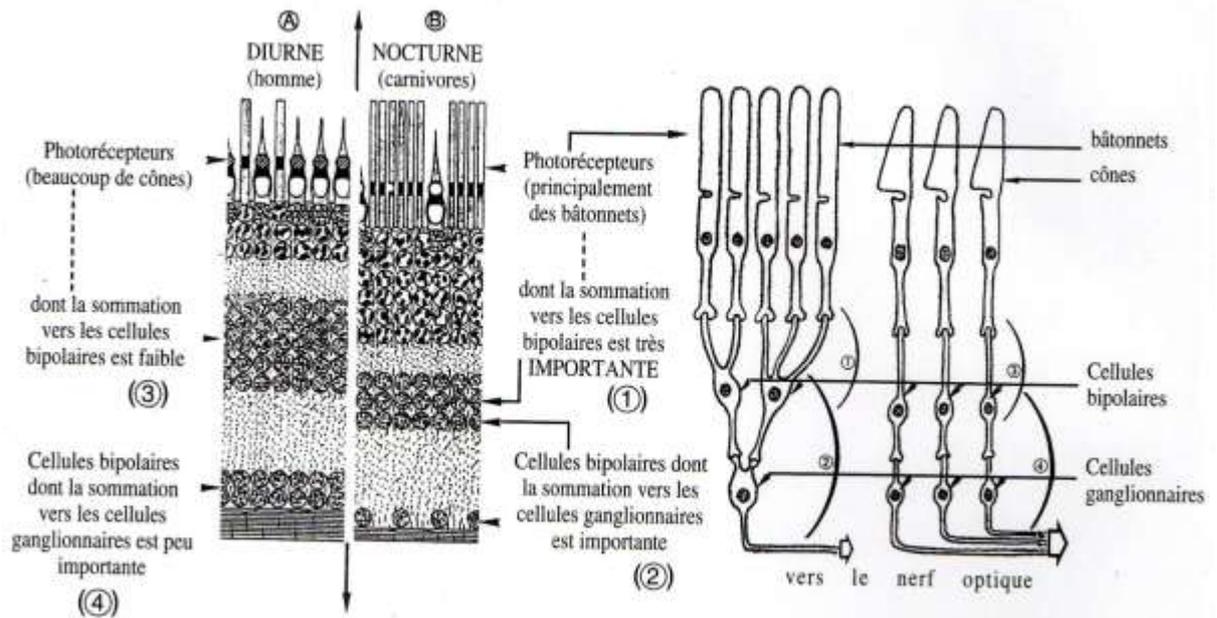


Figure 4 : Organisation trineuronale de la rétine (d'après [23])

b. Développement et évolution de la rétine neurosensorielle

A la naissance, le développement de la rétine neurosensorielle du chien n'est pas achevé. Dès la mise-bas, la maturation des protéines fonctionnelles de la rétine commence et elle s'achèvera avec l'obtention de la structure définitive des photorécepteurs rétiniens, entre la sixième et la septième semaine de vie.

Les étapes de la maturation de la rétine lors du développement prénatal sont :

1. Une phase de prolifération pendant laquelle se déroulent de nombreuses mitoses des cellules neuroblastiques ;
2. Une phase de migration des cellules pour former les différentes couches de la rétine ;
3. Une phase d'agrégation durant laquelle les cellules se regroupent et se reconnaissent ;
4. Une phase de différenciation des cellules aboutissant à la formation des deux types cellulaires de la rétine optique : les photorécepteurs et les cellules interneuronales ;
5. Une phase de synaptogénèse avec établissement de contacts préférentiels entre cellules ;
6. Une phase de mort cellulaire avec disparition de nombreuses cellules n'ayant pas acquis leur « droit de survie » lors de la phase de synaptogénèse.

Lors de la différenciation des photorécepteurs, le phénomène de ciliogénèse aboutit à la formation de l'article externe. Le cytoplasme s'invagine autour de microtubules et va progresser en direction de l'épithélium pigmentaire. Puis à son extrémité, il se produit un gonflement de la membrane plasmique avec apparition de vésicules qui vont s'étendre vers l'extrémité du cil et former ainsi les disques du segment externe [16].

Les photorécepteurs vont ensuite subir un renouvellement permanent : il y a en permanence des mécanismes de synthèse proximale et d'élimination distale des disques phagocytés par l'épithélium pigmentaire, permettant à l'article externe de conserver une longueur constante [63]

La phagocytose des disques par l'épithélium pigmentaire suit un rythme circadien : elle aura lieu préférentiellement lors des phases d'éclairement lorsque le rythme de vie du chien suit le cycle nyctéméral [23]

S'il se produit une interruption du processus de maturation des photorécepteurs au cours des premières semaines de vie ou un dysfonctionnement du mécanisme de phagocytose, durant la vie du chien, les répercussions sur le fonctionnement rétinien seront importantes.

### c. La transduction visuelle

La transduction visuelle (figure 5) correspond à l'ensemble des réactions permettant l'absorption de l'énergie lumineuse, sa conversion et son amplification en un signal électrophysiologique transmis au nerf optique. Elle se déroule en deux étapes : une étape photochimique et une étape électrophysiologique.

- Etape photochimique

La traduction de l'énergie lumineuse en énergie électrique est surtout connue pour les bâtonnets. Cette étape fait intervenir des récepteurs protéiques, notamment la rhodopsine synthétisée au niveau du réticulum endoplasmique de l'article interne et située dans la paroi des disques des bâtonnets.

La rhodopsine est constituée d'une glycoprotéine : l'opsine et d'un groupement chromophore dérivé de la vitamine A, le 11-cis rétinol, reliés par une base de Schiff. Elle est formée à partir du réticulum endoplasmique de l'article interne et se situe dans la paroi des disques des bâtonnets.

Le 11-cis rétinol permet l'absorption de tous les photons. L'opsine diffère suivant le type de cônes, on peut avoir une opsine absorbant principalement les radiations lumineuses bleues, vertes ou jaune-orangées. [6]

Lors de l'absorption d'un photon, il se produit une hydrolyse de la rhodopsine par photoisomérisation : le 11-cis rétinol subit une rotation autour des C12 et C13 et s'isomérisé en tout trans-rétnol qui se sépare de l'opsine permettant l'activation de la rhodopsine (rhodopsine activée ou Rh\*). La Rh\* agit sur une enzyme : la phosphodiesterase (PDE) par l'intermédiaire d'une protéine de la classe des protéines G : la transducine. ([6][21])

- Etape électrophysiologique ([6][16][64])

L'étape électrophysiologique consiste en des modifications membranaires. A l'obscurité, la guanosine triphosphate (GTP) est transformée par la guanylate cyclase en guanosine monophosphate cyclique (GMPc). Le GMPc va provoquer l'ouverture des canaux sodiques et calciques de la membrane cytoplasmique du bâtonnet : il se produit ainsi un déplacement continu d'ions depuis l'article interne vers l'espace extracellulaire et de l'espace

extracellulaire vers l'article externe entrainant une dépolarisation de la membrane cytoplasmique.

A la lumière, l'arrivée du photon sur le bâtonnet active la rhodopsine qui, via la transducine, active la PDE (PDE.T\*). PDE.T\* transforme le GMPc en GMP inactif. La baisse de la concentration en GMPc entraine la fermeture des canaux sodiques et calciques membranaires et engendre une hyperpolarisation de la membrane cytoplasmique qui va se transmettre de proche en proche tout le long de la paroi cellulaire jusqu'à la jonction synaptique. Au niveau de la jonction synaptique, l'hyperpolarisation membranaire entraine une diminution de la quantité de neuromédiateurs libérés ce qui va affecter l'état de dépolarisation des neurones rétiniens en contact de ces terminaisons synaptiques photoréceptrices (les cellules bipolaires et les cellules de Müller). Il se produit une amplification du phénomène, car 1 molécule de Rh\* peut activer 500 molécules de transducine, puis chaque molécule de PDE.T\* peut à son tour hydrolyser 2000 molécules de GMPc en GMP inactif en une seconde.

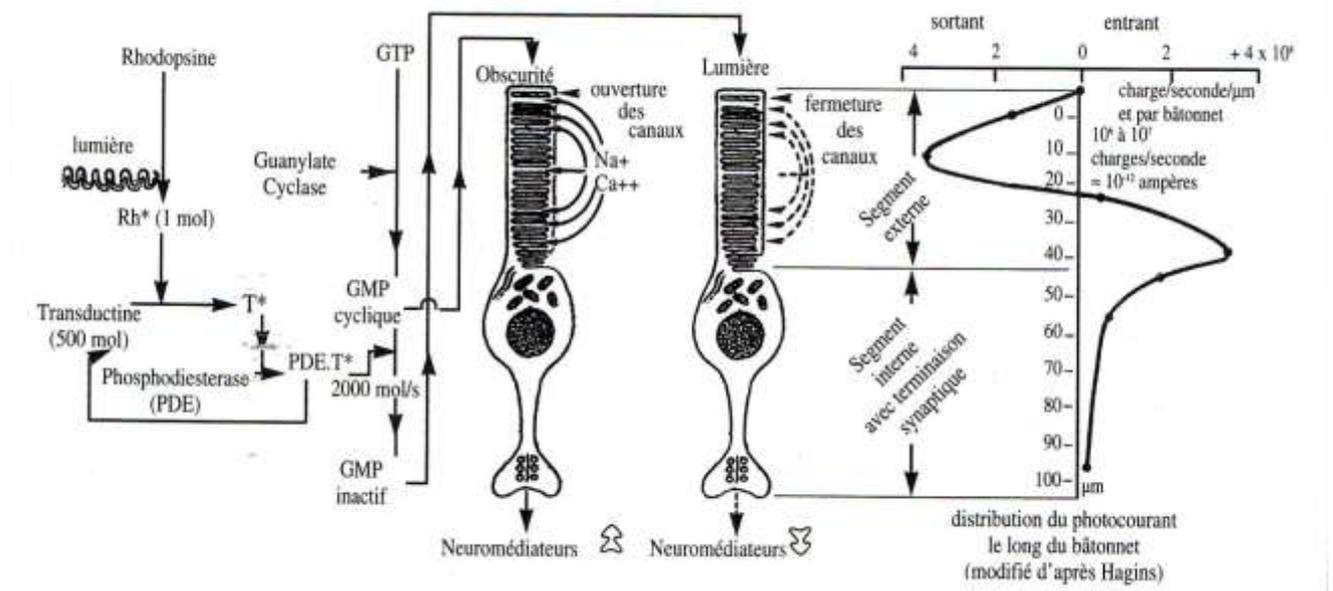


Figure 5 : La transduction visuelle (d'après [23])

- Mécanismes de régulation [21]

La fermeture des canaux calciques à la lumière entraîne par rétro-action une baisse de l'activité de la PDE et une augmentation de celle de la guanylate cyclase permettant la formation de GMPc à partir du GTP.

La phosphodiesterase (PDE) se compose de trois sous-unités :  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  ; lorsque ces trois sous-unités sont réunies, la PDE est inactivée.

La transducine est elle aussi composée de trois sous-unités  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  ; à la lumière il se produit une liaison Transducine  $\gamma$ –Rh\*.

La transducine liée à un GTP va libérer la sous unité  $\gamma$  de la phosphodiesterase permettant l'activation de cette dernière.

Deux phénomènes interviennent dans l'auto-régulation :

- La liaison de l'antigène S (Ag S, protéine membranaire de l'article externe) à la transducine  $\gamma$  et la phosphorylation de la Rhodopsine ;
- L'auto-inactivation de la Transducine  $\alpha$  par hydrolyse du GTP en diphosphate de guanosine (GDP) avec un rôle important du calcium dans ce phénomène.

L'espace entre l'épithélium pigmentaire et les photorécepteurs intervient par sa composition : protéines (dont la protéine de liaison intra rétinienne ou « Intra-Retinoïd-Binding Protein » IRBP), d'hydrates de carbone et d'acides gras permettant une diffusion intercellulaire de l'épithélium pigmentaire à l'article externe, réserve de rétinol (11-cis-rétinal à l'obscurité et tout-trans-rétinal à la lumière) et réserve d'acide gras liée à l'IRBP dans les membranes cellulaires des photorécepteurs et de l'épithélium pigmentaire.

### **3. Méthodes de dépistage des maladies héréditaires oculaires canines (MHOC)**

Les MHOC affectant les couches externes de la rétine ont pour origine l'atteinte d'une structure ou l'activation d'une molécule impliquée dans la chaîne de transduction. Le dépistage clinique des MHOC, quelle que soit la lésion recherchée, se fonde sur un examen complet de l'œil. L'examen clinique oculaire se déroule en deux étapes, avant et après dilatation de la pupille, et permet d'observer en détail l'ensemble des structures oculaires. Il

débute par le recueil des commémoratifs, puis est suivi d'un examen ophtalmologique et d'éventuels examens complémentaires.

a. Recueil des commémoratifs

Lors du recueil des commémoratifs il faut tenir compte :

- de la race : certaines maladies oculaires héréditaires ont une prédisposition raciale connue ;
- de l'âge : certaines maladies peuvent être dépistées chez le jeune (dysplasie rétinienne) alors que d'autres le sont préférentiellement chez le chien adulte ou âgé (atrophie rétinienne) ;
- du sexe : même si contrairement à d'autres domaines de la pathologie, il y a moins de maladies liées au sexe en ophtalmologie [108] ;
- de l'état de santé général : certaines affections oculaires peuvent être une manifestation d'une maladie générale génétique (maladies neuronales de surcharge par exemple).

b. Examen ophtalmologique [29][32]

➤ Examen de la vision

Afin d'estimer la vision d'un chien, plusieurs tests rapides peuvent être effectués :

- Clignement à la menace : Ce test permet à la fois d'évaluer les voies et centres de la vision ;
- Réflexe de fermeture des paupières à l'éblouissement : Lors de ce test, on éclaire les yeux l'un après l'autre à l'aide d'une lumière vive. L'animal doit normalement fermer les paupières et peut parfois présenter un mouvement de recul : les nerfs optique et facial sont mis en jeu sans intervention du cortex cérébral ;
- Suivi du regard : Pour réaliser ce test, on utilise une boule de coton (inodore, absence de bruit lors de sa chute au sol). En pratique, on attire l'attention du chien et on lui fait suivre du regard une boule de coton que l'on déplace lentement avant de la laisser tomber au sol. Normalement l'animal doit suivre la boule de coton lors de sa chute ;
- Parcours d'obstacles : On place l'animal à l'extrémité d'une pièce, son propriétaire dans le coin opposé et, entre les deux, on place différents obstacles. Ce test permet d'évaluer la

vision de l'animal en observant comment il va les éviter pour aller rejoindre son propriétaire. Le test doit être réalisé en ambiance éclairée et assombrie ;

- Réflexes photomoteurs : On dirige vers l'œil un rayon lumineux puissant et focalisé, qui doit entraîner une contraction de la pupille éclairée (réflexe direct) et une contraction plus lente de la pupille de l'œil controlatéral (réflexe indirect). Ce test permet d'évaluer les nerfs optiques et les fibres parasympathiques sur le trajet du nerf oculomoteur commun. [108]

#### ➤ Examen détaillé du segment antérieur

Les techniques mises en œuvre sont :

- La biomicroscopie : L'utilisation de l'éclairage en fente (lampe à fente) permet de réaliser des coupes optiques des structures transparentes et permet ainsi un examen précis du segment antérieur ainsi que de la partie antérieure du vitré. On utilise une fente large pour les zones peu transparentes et une fente étroite sur les parties transparentes ;
- La gonioscopie : Cet examen permet l'observation du ligament pectiné à l'aide d'un système éclairant-grossissant et d'une lentille placée sur la cornée.

#### ➤ Examen du segment postérieur

L'observation du fond d'œil et du vitré se déroule après dilatation pharmacologique de la pupille (instillation de quelques gouttes de collyre tropicamide à 0,5% (Mydriaticum®) quinze minutes avant l'observation du fond d'œil) et par la mise en œuvre des techniques suivantes :

- ophtalmoscopie directe : L'ophtalmoscopie directe est très peu utilisée lors du dépistage des MHOC. On obtient une image à l'endroit, grossie mais de faible surface (quelques diamètres papillaires) du fond d'œil;
- ophtalmoscopie indirecte : L'ophtalmoscope indirect se compose d'un casque muni de deux oculaires et d'une source lumineuse. L'observateur interpose une lentille plan-convexe entre lui et l'œil examiné (puissances couramment utilisées : 30 et 20

dioptries) afin d'obtenir une image renversée moins agrandie mais complète du fond d'œil.

➤ Aspect du fond d'œil (figure 6)

Les éléments constitutifs du fond d'œil sont :

- La zone du tapis : elle varie, avec la taille et la robe du chien, en taille, couleur, et aspect. Elle occupe la partie dorsale du fond d'œil, est bleutée chez le chiot, puis verte ou jaune à orangée chez l'adulte ;
- La zone sans tapis : elle occupe la partie ventrale et périphérique du fond d'œil. La zone sans tapis présente une couleur allant du fauve au noir, du fait de la présence de mélanine dans l'épithélium pigmentaire de la rétine. Cet aspect varie suivant les races : la pigmentation est réduite ou absente chez les chiens à iris bleu, les chiens à iris clair ont une zone sans tapis de couleur fauve ;
- La papille : elle se situe généralement à la limite entre la zone du tapis et la zone sans tapis mais peut se trouver entièrement dans l'une ou l'autre de ces zones. Elle est de forme ronde à triangulaire bordée ou non par une marge pigmentée. Elle est en général de couleur blanc nacré plus ou moins rosée, et comporte une zone centrale grisâtre ponctiforme en légère dépression : tache de Bergmeister ;
- La vascularisation rétinienne superficielle : La vascularisation rétinienne se compose de trois veines principales aboutissant au cercle veineux intrapapillaire de Zinn complet ou non : une veine dorsale, une veine nasale et une veine temporale. Ces veines sont dichotomisées et de sinuosité variable selon les races. Les artères sont plus nombreuses, rectilignes et plus grêles. Le chien ne possède pas d'artère centrale de la rétine.

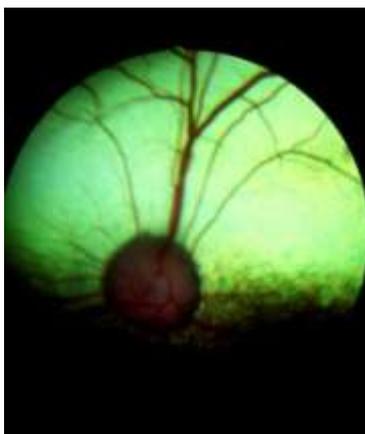


Figure 6 : Rétinographie : Fond d'œil normal d'un Bouvier Bernois (image fourni par le Dr Chaudieu)

c. Examens complémentaires :

- appréciation quantitative de la sécrétion de larmes

La mesure de la sécrétion lacrymale peut se faire à l'aide du test de Schirmer (valeurs normales comprises entre 15 et 20 mm/min chez le chien) ou du test du fil imbibé de rouge phénol (valeurs normales comprises entre 20 et 45 mm/s chez le chien) ;

- échographie oculaire

L'échographie en mode B permet d'explorer les structures postérieures en cas d'opacités cornéenne ou cristallinienne.

- angiographie fluorescéine du fond d'œil

Cet examen se déroule après dilatation pupillaire pharmacologique et consiste en la prise de clichés du fond d'œil après injection intraveineuse de fluorescéinate de sodium à 10%. Il permet une observation dynamique de la vascularisation rétinienne et choroïdienne ainsi que le typage de lésions tissulaires rétiniennes et/ou choroïdiennes [73] ;

- électrorétinographie (ERG)

Cet examen se déroule sous anesthésie générale après dilatation pupillaire pharmacologique. C'est une technique d'enregistrement du potentiel d'action rétinien déclenché par une variation de l'éclairement de la rétine sous l'influence d'une stimulation lumineuse brève et intense. Chez le chien, on utilise une stimulation blanche achromatique et une stimulation scotopique (bleue) après adaptation à l'obscurité qui permet de stimuler les différents types de photorécepteurs et de mettre en évidence l'activité électrique globale

de la rétine. L'ERG apporte des renseignements sur la physiologie rétinienne en permettant de détecter une dysplasie ou dégénérescence des photorécepteurs avant l'apparition des signes ophtalmoscopiques. [28]

d. Certificat de dépistage des maladies héréditaires oculaires canines

A la suite de cet examen officiel, le vétérinaire ophtalmologiste rédige un certificat de dépistage des maladies héréditaires oculaires canines comportant des informations relatives au chien (nom, race, sexe, date de naissance, identification, numéro d'inscription au Livre des Origines Français LOF), les coordonnées du propriétaire, les techniques d'examen et les conclusions de l'examen concernant les différentes maladies recherchées. En France, depuis 2007, une forme informatisée de ce certificat a été mis en place pour toutes les races afin d'homogénéiser et de faciliter la lecture des résultats. Ce certificat est imprimé en trois exemplaires : un pour le propriétaire du chien, un exemplaire à l'attention du club de race qui devra être envoyé par les soins du propriétaire et le dernier conservé en archives par le vétérinaire. Un certificat européen ECVO (European College of Veterinary Ophthalmologists), accepté dans tous les pays d'Europe, peut être établi par les diplômés ou « panellists » ECVO.

Chez le Border Collie, les maladies recherchées sont : la prédisposition au glaucome primaire par gonioscopie, la luxation primaire du cristallin, l'AOC (anomalie de l'œil du colley) et surtout l'APR (atrophie progressive de la rétine), dont une forme spécifique à la race est recherchée.

L'association française du Border Collie (AFBC) demande, pour toute participation au circuit de qualification pour la coupe de France, classe 2 ou 3, et pour toute demande de cotation à un niveau 3,4 ou 6, de présenter un certificat de dépistage des MHOC datant de moins de 2 ans et réalisé après l'âge de deux ans. Cette demande de la part du club de race vise à obliger les propriétaires à faire examiner leurs chiens et surtout à pouvoir retirer de la reproduction, les animaux atteints [123].

## **B . Le Border Collie**

### **1. Présentation de la race**

Le Border Collie est un chien de berger d'origine britannique qui doit sa réputation à ses aptitudes au travail (près de 98% des bergers anglais l'utilisent) [31]. Il fait partie du groupe 1 de la classification de la Fédération Cynophile Internationale.

Bien que le nom officiel de Border Collie n'ait été fixé qu'en 1915 par l'International Sheepdog Society, on considère que cette race a été fixée en 1893, grâce à un étalon, "Old Hemp", qui aurait produit plus de deux cents chiots [39].

En France, l'apparition du Border Collie date de la fin des années soixante et depuis la race n'a cessé de progresser dans le pays (1133 naissances en 1999, 1949 en 2011) [95].

#### **a. Standard de la race**

Un Border Collie est représenté sur la figure 7 et le standard de la race, tel qu'il a été déposé en 1976 à la FCI [126] par le Kennel Club, sur la figure 8.



Figure 7 : Un Border Collie

**Standard F.C.I. N°297 / 24.08.1988 / F**

(Traduction : Pr . R. Triquet.)

**ORIGINE** : Grande Bretagne

**CLASSIFICATION F.C.I.:**

Groupe 1 Chiens de berger et de bouvier (sauf chiens de bouvier suisses).

Section 1 Chiens de berger. Avec épreuve de travail.

**ASPECT GENERAL** : Chien bien proportionné ; la noblesse, l'élégance et l'équilibre parfait de la silhouette harmonieuse se combinent avec une substance suffisante pour donner une impression d'endurance. Tout manque d'harmonie comme tout manque de substance est à éviter.

**CARACTERISTIQUES** : Chien de berger tenace, travailleur et très docile.

**TEMPERAMENT** : Ardent, vigilant, réceptif et intelligent. Ni craintif, ni agressif.

**TETE ET CRANE** : Crâne passablement large. L'occiput n'est pas prononcé. Les joues ne sont pas pleines, ni arrondies. Le museau qui va en s'amenuisant vers l'extrémité est modérément court et fort ; le crâne et le museau sont approximativement de la même longueur. Le stop est bien marqué. La truffe est noire sauf chez les sujets à robe marron (chocolat) où elle peut être brune. Quand la robe est bleue, la truffe doit être de couleur ardoise. Les narines sont bien développées.

**YEUX** : Les yeux sont bien écartés, de forme ovale, de grandeur moyenne, de couleur brune sauf chez les chiens merle où l'on admet qu'un œil ou les deux yeux soient bleus, en partie ou en totalité. L'expression est douce, vive, éveillée et intelligente.

**OREILLES** : Les oreilles sont de taille et texture moyennes, bien écartées, portées droites ou semi-dressées et attentives au moindre bruit.

**MACHOIRE** : Les dents et les mâchoires sont fortes et présentent un articulé en ciseaux parfait, régulier et complet, c'est-à-dire que les incisives supérieures recouvrent les inférieures dans un contact étroit et sont implantées bien d'équerre par rapport aux mâchoires.

**COU** : L'encolure est de bonne longueur, forte et musclée, légèrement rouée ; elle va en s'élargissant vers les épaules.

**AVANT-MAIN** : Vus de face, les membres antérieurs sont parallèles. Vus de profil, les canons métacarpiens sont légèrement obliques. L'ossature est forte mais sans lourdeur. Les épaules sont bien inclinées ; les coudes sont contre le corps.

**CORPS** : D'apparence athlétique. Les côtes sont bien cintrées ; la poitrine est bien descendue et assez large. Le rein est bien descendu et musclé. L'abdomen n'est pas remonté au niveau du flanc. La longueur du corps est légèrement supérieure à la hauteur au garrot.

**ARRIERE-MAIN** : L'arrière-main est large et musclée ; son profil descend gracieusement vers l'attache de la queue. Les cuisses sont longues, larges et musclées ; les grassets sont bien angulés ; les jarrets sont forts et bien descendus. Du jarret au pied, les postérieurs doivent avoir une bonne ossature et, vus de derrière, ils sont parallèles.

**PIEDS** : De forme ovale. Les coussinets sont épais, forts et sains. Les doigts sont cambrés et serrés. Les angles sont courts et forts.

**QUEUE** : Modérément longue, la dernière vertèbre atteignant au moins le jarret ; attachée bas, bien garnie de poils, elle se termine par une courbe vers le haut, parachevant la grâce de la silhouette et l'harmonie du chien. La queue peut se relever quand le chien est en action mais n'est jamais portée sur le dos.

**ALLURE** : L'allure est dégagée, régulière et facile, les pieds se levant au minimum. Elle donne l'impression que le chien est capable de se mouvoir à pas furtifs et très rapidement.

**POIL** : Deux variétés : modérément long et court. Dans les deux variétés, le poil de couverture est dense, de texture moyenne et le sous-poil est doux et serré, formant une bonne protection contre les intempéries. Dans la variété à poil modérément long, les poils abondants forment une crinière, des culottes et une queue de renard (brosse). Le poil doit être court et lisse sur la face, aux oreilles, sur les membres antérieurs (excepté pour les franges), sur les membres postérieurs, des jarrets aux pieds.

**COULEUR** : Toutes couleurs sont admises. Le blanc ne doit jamais dominer.

**TAILLE** : Taille idéale : Mâles : 53 cm, Femelles : un peu moins.

**DEFAUTS** : Tout écart par rapport à ce qui précède doit être considéré comme un défaut qui sera pénalisé en fonction de sa gravité.

**N.B.** : les mâles doivent avoir deux testicules d'apparence normale complètement descendus dans le scrotum.

Figure 8 : Standard du Border Collie (d'après [137])

En résumé, le Border Collie est principalement de couleur noire avec le collier, la liste et l'extrémité des pattes blanches, mais toutes les couleurs restent admises. La longueur du poil peut varier du court au mi-long.

L'association française du Border Collie précise sur son site internet [123] que la principale caractéristique du Border Collie est son aptitude particulière en présence d'un troupeau, son standard doit donc être interprété assez soupagement notamment concernant sa taille et ses couleurs.

Le Border Collie est la seule race en France dont la confirmation ne se fait pas sur des critères morphologiques de conformation au standard mais via un TAN (Test d'Aptitude Naturelle) visant à mettre en évidence les aptitudes du chien à guider un troupeau.

#### b. Le Border Collie, un chien de troupeau

Ce qui fait du Border Collie un chien de troupeau d'exception est son instinct de soumission très puissant lui permettant de développer une volonté de plaire à son maître, le rendant facile à éduquer ; et son instinct de chasseur (« instinct de berger ») qui lui confère un besoin de travailler presque inépuisable. Cet instinct de berger se retrouve dès le plus jeune âge et il n'est pas rare de voir des chiots Border Collie regrouper les animaux de la basse cour ou encercler des moutons [70]. Le Border Collie possède un style particulier face à un troupeau qui se compose :

- de l'œil : regard fixe permettant au chien d'établir la connexion avec le troupeau. Ce phénomène serait, selon Legatte [71], proche d'un comportement de peur modérée durant lequel la proie manifeste une curiosité fascinée pour son prédateur.

- de la puissance : possibilité pour le chien de provoquer le mouvement des animaux, de les faire avancer devant lui. La distance minimum nécessaire entre le chien et les animaux pour les faire réagir augmente proportionnellement à sa puissance.

- de la possession : prise de contrôle du troupeau par le chien ; la possession est une résultante de l'œil et de la puissance [31].

### c. Sélection

La sélection du Border Collie s'effectuait au XVIII<sup>e</sup> siècle selon trois critères [95]:

- Sa capacité à déplacer les moutons dans le calme et sans heurt
- Sa capacité à s'imposer face aux moutons
- Sa souplesse de caractère permettant un bon dressage.

Selon Pascal Cacheux [19], un chien qui travaille se compose d'une moitié d'aptitudes naturelles et d'une moitié de dressage. Les aptitudes naturelles se définissent comme un intérêt fort, solidement ancré pour les animaux et leurs mouvements, une soumission et une acceptation naturelle à la hiérarchie et un caractère sans excès vis-à-vis des hommes et des animaux. Le dressage doit permettre d'utiliser au mieux tous les comportements et d'exprimer des aptitudes a priori inutilisables en son absence. Pour résumer, la qualité du dressage doit faciliter l'expression des aptitudes naturelles et inversement.

L'examen de confirmation au troupeau permet d'évaluer les aptitudes du chien au troupeau et notamment son œil et sa puissance. Un exemplaire du document de confirmation est disponible en Annexe 1.

Les concours sur ovins, tels qu'organisés par l'AFBC, semblent un moyen de sélection pertinent bien que perfectibles du fait d'une héritabilité faible des caractères correspondant à la conduite de troupeau et de facteurs environnementaux (présélection par des dresseurs, conducteurs de haut niveau) [59]

Afin de faciliter la sélection des meilleurs reproducteurs, l'AFBC a mis en place une grille de sélection fondée à la fois sur les aptitudes au troupeau du chien et sur le statut du chien concernant l'Atrophie Progressive de la Rétine et l'Anomalie de l'Œil du Colley. Un exemple de cette grille de sélection adoptée par la commission d'élevage de la SCC (Société Centrale Canine) se trouve en figure 9.

1 point / 6	2 points / 6	3 points / 6	4 points / 6	5 points / 6	6 points / 6
CONFIRME	Chien confirmé  +  Travaillant en exploitation  Ou  Ayant participé à un concours classe II d'un spécial Border Collie  ou  inter-races  ou  sur bovins	Chien confirmé  +  Exempt d'APR et d'AOC  +  Travaillant en exploitation  Ou  Ayant participé à un concours classe III spécial Border Collie  ou  inter-races  ou  sur bovins	Chien confirmé  +  Exempt d'APR et d'AOC  +  Radio des hanches notées A, B ou C  +  Ayant participé au moins 3 fois avec au moins 75 % des points à des concours classe III spécial Border Collie  ou  inter-races  ou  sur bovins	Chien coté 1 point ayant produit en 1 <sup>ère</sup> génération au minimum :  <b>Pour un mâle</b> : 4 sujets cotés au moins 2 points avec au moins 2 femelles différentes.  <b>Pour une femelle</b> : 4 sujets cotés au moins 2 points, en au moins 2 portées différentes.	Chien coté 4 points ayant produit en 1 <sup>ère</sup> génération au minimum :  <b>Pour un mâle</b> : 4 sujets cotés au moins 2 points avec au moins 2 femelles différentes.  <b>Pour une femelle</b> : 4 sujets cotés au moins 2 points, en au moins 2 portées différentes.

Figure 9 : Grille de sélection du Border Collie (d'après [123])

## 2. Les principales maladies oculaires héréditaires du Border Collie

Un certain nombre de maladies oculaires sont répertoriés chez le Border Collie, nous pouvons séparer celles affectant la rétine et celles touchant d'autres structures que la rétine. Le mode de transmission de certaines d'entre elles, est connu chez le Border Collie. Lorsque cela n'est pas le cas nous présenterons les modes de transmission connus dans d'autres races.

a. Maladies autres que celles affectant la rétine

- Entropion [101]

L'entropion est un enroulement vers l'intérieur du bord libre de la paupière. Il peut atteindre la paupière inférieure et/ou supérieure. Chez le Border Collie, les cas observés sont rares, atteignant des chiots d'au moins 10 semaines et affectant la partie latérale de la paupière inférieure (entropion spastique) [26].

A l'heure actuelle, aucun gène responsable de l'apparition d'entropion chez le chien n'a été mis en évidence, mais selon certains auteurs ([21]), dans certaines races prédisposées, la transmission se ferait selon un mode autosomique dominant avec pénétrance complète ou incomplète, voire polygénique.

- Kératite superficielle périphérique/épisclérite

Il s'agit d'une inflammation de l'épisclère et de la cornée qui s'accompagne d'un œdème cornéen localisé et de modifications de la cornée telle que la présence de vaisseaux longs et flexueux, d'infiltration cellulaire et de pigments irrégulièrement déposés au niveau des zones atteintes.

Chez le Border Collie, les chiens atteints ont entre 3 et 7 ans. On rencontre une forme typique d'épisclérokératite dans cette race. Les lésions inflammatoires, de type kératoconjonctivite superficielle (KSC) du Berger allemand, sont bilatérales, assez rarement symétriques et sont dominées par la composante vasculaire et granulomateuse [26].

- Luxation du cristallin

La luxation du cristallin correspond à un déplacement de ce dernier suite à la rupture de son système de suspension (zonule de Zinn). Chez le Border Collie, la luxation du cristallin survient entre 3 et 5 ans, d'abord de façon unilatérale, puis parfois bilatérale. Une étude menée par le Dr Gilles Chaudieu [24] révèle que moins de 1% des Border Collie observés, présentent des cristallins en place (luxables) à zonule dysplasique et/ou dystrophique. Dans cette race, les cristallins à zonule anormale sont de forme globoïde avec un petit diamètre. Une dysplasie des corps ciliaires peut-être associée chez des chiens à

luxation précoce. La luxation du cristallin se transmet selon un mode autosomique récessif dans la race.

Il a été montré dans près de vingt races que la luxation du cristallin était due à une mutation ancienne au sein du gène ADAMTS17 (A Disintegrin-Like And Metalloprotease Reprolysin Type With Thrombospondin Type 1 Motif 17) situé sur le CFA3 (chromosome de *Canis Familiaris*) et qu'elle se transmet selon un mode autosomique récessif. ([45][53][89][116]) Un test de dépistage génétique est mis à disposition des éleveurs pour le Bull Terrier Miniature, le Jack Russel Terrier, le Terrier du Tibet, le Fox Terrier à poil dur et le Terrier de chasse allemand [129].

- Persistance de la tunique vasculaire postérieure du cristallin et du vitré primaire

La persistance de la tunique vasculaire postérieure du cristallin correspond au maintien de structures vasculaires embryonnaires qui auraient dû disparaître au cours du développement *in utero*. On retrouve surtout des formes mineures chez le Border Collie avec une prévalence de 10% et une transmission qui se ferait selon un mode dominant à forte pénétrance [28].

- Cataracte [7]

La cataracte correspond à une opacification partielle ou totale du cristallin suite à une hydratation des fibres cristalliniennes avec formation d'agrégats protéiques de haut poids moléculaires. Elle peut être uni-ou bilatérale [52].

Chez le Border Collie, on rencontre des cataractes corticales postérieures pouvant être vacuolaires périphériques ou plus rarement sous-capsulaires polaires triangulaires [26], chez des individus d'âge compris entre 2,5 et 9 ans, avec un âge d'apparition moyen de 6 ans. Des formes avec opacités réfringentes ponctiformes ou allongées verticalement dans le noyau cristallinien ont été observées chez des individus adultes d'au moins 3 ans. Une cataracte corticale sous capsulaire antérieure est également décrite chez des chiens âgés de 4 à 6 ans [103]. Cette affection reste rare en France et son mécanisme héréditaire est encore inconnu.

Une mutation (insertion d'une cystéine) du gène HSF4 (Heat Shock Transcription Factor 4) situé sur le CFA5 est à l'origine de la cataracte héréditaire du Boston terrier (forme juvénile), du Staffordshire Bull Terrier et du Berger australien, mais cette mutation n'est pas

responsable de toutes les formes de cataractes rencontrées dans ces races [81][82]. La transmission de la cataracte par des mutations du gène HSF4 se ferait selon un mode autosomique récessif chez le Boston Terrier et le Staffordshire Bull Terrier et selon un mode autosomique dominant avec pénétrance incomplète chez le Berger australien [82][83]. En effet un Berger australien porteur d'un allèle muté aura 17 fois plus de chance de développer une cataracte qu'un chien non porteur de l'allèle muté [84], mais pour autant, n'en développera pas systématiquement.

#### b. Les affections héréditaires de la rétine décrites chez le Border Collie

Parmi les maladies héréditaires affectant la rétine, certaines sont congénitales (colobome, dysplasie rétinienne), d'autres se manifestent au bout de quelques semaines d'âge car elles sont dues à une maturation incomplète des cellules de la neurorétine (dysplasie des photorécepteurs) et enfin certaines ne se manifestent que tardivement dans la vie de l'animal car elles font suite à une dégénérescence programmée des cellules rétinienne (dégénérescence des photorécepteurs) [30]. Nous ne traiterons, dans cette partie, que des affections de la rétine autres que l'atrophie progressive de la rétine, qui sera traitée dans le paragraphe suivant.

- Lipofuscinose céroïde

Cette maladie est due à des dépôts de lipofuscine dans les neurones, les cellules ganglionnaires et l'épithélium pigmentaire de la rétine. Cliniquement, on observera une amaurose dès le jeune âge associée à des signes nerveux centraux, due à une déficience en peroxydase, apparaissant dès l'âge de 1 an. Dans un premier temps, on pourra avoir une baisse des facultés visuelles, puis apparition de symptômes nerveux (dépression, ataxie, douleurs musculaires, hypersensibilité des masséters, convulsions). En général, la mort de l'animal survient dans l'année suivant l'apparition des premiers signes.

Chez le Border Collie, la lipofuscinose céroïde se manifeste sous forme d'une cécité avec capacités des photorécepteurs préservées dans un premier temps. Les dépôts de lipofuscine s'accumulent dans les cellules de l'épithélium pigmentaire formant des taches brunâtres sur le fond d'œil [26][106].

Chez le Border Collie, cette maladie se transmet selon un mode autosomique récessif et est due à une mutation non sens au sein du gène CLN5 (Ceroid-Lipofuscinosis, Neuronal 5) du CFA22 [85]. Un test génétique valable uniquement pour le Border Collie est disponible [130].

- Anomalie de l'œil du Colley

L'anomalie de l'œil du colley (AOC) est une affection complexe du fond d'œil. Elle correspond à une anomalie de développement des structures mésodermiques, vasculaires et fibreuses des parties postérieures du globe oculaire [88][98][103].

La gravité des lésions observées est classée en quatre grades qui sont par ordre de gravité croissante [26] :

- Grade 1 : Hypoplasie et/ou dysplasie choroïdienne : il s'agit d'une zone hypopigmentée temporale par rapport à la papille dans laquelle les vaisseaux choroïdiens sont en nombre réduit et présentent des anomalies de direction et de calibre. L'atteinte est bilatérale et souvent symétrique ;
- Grade 2 : Hypoplasie choroïdienne et colobome du nerf optique : le colobome correspond à un déficit tissulaire dû à l'absence ou à une insuffisance de fermeture de la fissure optique fœtale [28] ;
- Grade 3 : Grade 2 et présence d'un décollement de la rétine ;
- Grade 4 : Grade 3 et présence d'hémorragies intra-oculaires.

En France, l'AOC reste rare chez le Border Collie [26] alors que sa prévalence est de 6% au Royaume-Uni [116]. La dysplasie/hypoplasie choroïdienne se transmet selon un mode autosomique récessif affectant de nombreuses races : Colley, Berger des Shetland, Border Collie, Berger Australien, etc [23]. Elle est due à une délétion de 7,8 kb (kilobase) au sein du gène NHEJ1 (Nonhomologous End-Joining Factor 1) situé sur le CFA 37 [20][92]. Un test génétique est disponible pour le Border Collie, le Colley, le Berger des Shetland et le Berger Australien [129].

- Dysplasie rétinienne

Un défaut de différenciation des couches de la rétine est à l'origine de la dysplasie rétinienne. Lors de l'examen du fond d'œil, on pourra observer le plus souvent des plis linéaires ou vermiformes (grisâtres bordés d'une zone hyperréfléchissante dans la zone du tapis), et moins fréquemment des stries grisâtres dans la zone sans tapis, ou un décollement rétinien [25].

Chez le Border Collie, on rencontre des formes mineures avec des plis disparaissant avec la croissance, des formes majeures avec décollement de la rétine [99].

Cette maladie est transmise selon un mode autosomique récessif dans la majorité des races où elle est connue (Akita Inu, Beagle, Bedlington Terrier, Berger Allemand, Colley, Samoyède,...) [25].

## **C. L'atrophie progressive de la rétine chez le chien**

### **1. Généralités**

Le terme atrophie progressive de la rétine (APR ou PRA : Progressive Retinal Atrophy) regroupe des affections des couches externes de la rétine (photorécepteurs et épithélium pigmentaire), progressives et héréditaires. Ces affections sont généralement bilatérales et entraînent une perte de vision pouvant aller jusqu'à la cécité [22][23].

Plus d'une centaine de races sont touchées par l'atrophie progressive de la rétine. En 1989, Rubin en avait décomptées 91 [99].

### **2. Classification**

On trouve deux grands types de dégénérescence rétinienne héréditaire regroupés sous le terme d'APR :

- L'APR centrale (ou CPRA : Central Progressive Retinal Atrophy) correspond à une dégénérescence de la neurorétine secondaire à une dystrophie de l'épithélium pigmentaire, principalement dans l'*aera centralis*. Les chiens atteints semblent avoir une déficience de la vision de près sur des objets fixes et conservent assez tardivement une bonne vision périphérique. La vision semble meilleure en faible luminance. Les premiers signes fonctionnels apparaissent entre 18 mois et 5 ans. Les lésions sont bilatérales et de symétrie variable [26].

- L'APR généralisée regroupe les dégénérescences pour lesquelles les photorécepteurs sont primitivement atteints : dysplasies et dégénérescences précoces ou non des photorécepteurs. Ces affections se caractérisent par une baisse de la vision crépusculaire progressive jusqu'à une cécité totale. Lors de dysplasie ou de formes précoces de dégénérescence des photorécepteurs, la cécité est complète entre 1 et 5 ans, alors que pour une dégénérescence des photorécepteurs la cécité de nuit s'installe entre 1 et 5 ans et devient complète à partir de l'âge de 3 ans jusqu'à plus de 5 ans d'âge. Les lésions sont bilatérales, non inflammatoires et le plus souvent symétriques [26].

### **3. Historique**

L'atrophie progressive de la rétine a été décrite pour la première fois chez le chien en 1911 par Magnusson dans un effectif de Setter Gordon en Suède [78]. Elle a ensuite été décrite chez le Setter Irlandais entre 1939 et 1955 au Royaume Uni [58], puis chez le Caniche au Royaume Uni de 1962 à 1965 [8][9][10][12].

Les termes de dégénérescence, dysplasie et dystrophie des photorécepteurs et de l'épithélium pigmentaire, ont été introduit suite à une étude menée par Aguirre en 1976 [2] sur les affections des cônes et des bâtonnets dans différentes formes d'APR.

L'atrophie centrale de la rétine a été décrite pour la première fois en 1954 [93]. Les études suivantes ont surtout porté sur le Berger de Brie [15], le Retriever du Labrador [13] et le Border Collie [14].

Depuis, l'atrophie progressive de la rétine a été décrite dans de nombreuses races et fait l'objet de nombreuses études génétiques pour en comprendre l'origine et identifier de nouveaux gènes impliqués dans ce groupe de rétinopathies.

#### 4. Description des différents types d'APR

##### a. L'atrophie centrale de la rétine ou dystrophie de l'épithélium pigmentaire

La dystrophie de l'épithélium pigmentaire rétinien, ou atrophie centrale de la rétine, est due à un défaut de métabolisme de l'épithélium pigmentaire, entraînant une altération morphologique et fonctionnelle de cet épithélium chez des chiens adultes. Lors de l'examen du fond d'œil, on observe la présence de mouchetures brunâtres plus ou moins nombreuses tout d'abord en tapis temporal, qui envahissent ensuite rapidement l'*aera centralis*. Pour les stades avancés, on observe une diminution du calibre des vaisseaux, un aspect grisé de la papille ainsi qu'un aspect hyperréfléchissant du tapis.

Chez le Retriever du labrador, la dystrophie de l'épithélium pigmentaire se transmettrait selon un mode autosomique dominant à pénétrance incomplète [13].

En France, cette affection n'a encore jamais été mise en évidence chez le Border Collie, mais son incidence atteignait les 12% au Royaume-Uni en 1965, avant que des mesures de dépistage et d'éradication aient permis de baisser cette incidence à 2% [11]. La transmission se ferait selon un mode autosomique dominant ou polygénique [93][132]. Les conditions du milieu, notamment une carence en vitamine E, sont prépondérantes dans l'apparition de la dystrophie de l'épithélium pigmentaire [96].

##### b. L'Atrophie Progressive de la Rétine *sensus stricto* (Tableau I)

On retrouve sous le qualificatif d'Atrophie Progressive de la Rétine (APR) les différentes formes suivantes :

- Cécité de nuit (Congenital stationary night blindness : csnb)

Il s'agit d'une atteinte des photorécepteurs entraînant une cécité en basse luminosité ou de nuit mais sans gêne en haute luminosité

Chez le Berger de Brie et le Beagle, cette maladie se transmet selon un mode autosomique récessif et est due à une délétion de 4 pb (paire de base) au sein du gène RPE65

(Retinal pigment epithelium-specific 65) situé sur le CFA6 [4][15][109]. Un test génétique est disponible pour le Briard et le Beagle [131].

- Dégénérescence rétinienne précoce (early retinal degeneration : erd)

Lors de dégénérescence rétinienne précoce, les signes cliniques sont les mêmes que lors d'atrophie de la rétine, mais sont visibles dès le plus jeune âge et ce, malgré un développement normal des photorécepteurs [25].

Une mutation au niveau du gène STK38L1 (Serine/Threonine Kinase 38) situé sur le CFA27 est à l'origine de la dégénérescence rétinienne précoce chez le chien d'élan norvégien [50].

- Dysplasie des bâtonnets et des cônes (rod-cone dysplasia : rcd)

Le développement post-natal de la rétine est incomplet ou anormal ce qui va entraîner des troubles de la vision précoces dès l'âge de 6 mois. Cette affection est progressive et débute par une atteinte des photorécepteurs puis des autres couches de la rétine [30]. Il se produit une accumulation de monophosphate de guanosine cyclique (GMPc) toxique pour les cellules ce qui entraîne un arrêt du développement post-natal des bâtonnets puis des cônes [25].

Chez le Setter Irlandais, le Sloughi et le Welsh Corgi Cardigan, la dysplasie des bâtonnets et des cônes se transmet selon un mode autosomique récessif. Elle est due à une insertion de 8bp au sein de l'exon 21 de la sous unité bde du gène PDE6B situé sur le CFA3 chez le Sloughi ; à une mutation du codon 807 de ce même exon chez le Setter Irlandais et à une délétion du codon 816 de la sous unité alpha de ce gène chez le Welsh Corgi Cardigan [3][5][33][94]. Chez le Colley et le Schnauzer nain, cette maladie se transmet aussi selon un mode autosomique récessif et est due à une mutation du gène RD3 (Retinal Degeneration 3) situé sur le CFA7. Chez le Schnauzer nain, il ne s'agirait que d'un simple polymorphisme car cette mutation n'est pas forcément responsable du phénotype malade chez les individus homozygotes [60][67][120].

- Dysplasie des cônes (Cone dysplasia : cd)

Cette maladie se caractérise, chez le Malamute de l'Alaska, par une cécité diurne progressive croissante avec conservation de la vision en ambiance crépusculaire. La cécité diurne est quasi-complète dès l'âge de 8 semaines [26]. Lors de l'examen ophtalmoscopique, le fond d'œil apparaît normal [30]. Cette maladie se transmet selon un mode autosomique récessif et est due à une délétion de l'ensemble du gène CNGB3 (cyclic nucleotide gated channel beta 3) situé sur le CFA29. Elle est due à une mutation faux sens beaucoup plus petite chez le Braque allemand, au sein de ce même gène, chez qui elle ne provoque qu'une photophobie [86][102].

- Dégénérescence des bâtonnets et des cônes (Progressive Rod cone degeneration : prcd)

Il s'agit d'une dégénérescence progressive des photorécepteurs (bâtonnets et cônes). C'est la forme la plus couramment rencontrée de maladie rétinienne héréditaire.

Cette maladie est symptomatique chez l'adulte et peut se compliquer d'une cataracte secondaire en fin d'évolution [30].

La dégénérescence des photorécepteurs atteint de nombreuses races avec des modes de transmissions différents, le mode autosomique récessif étant largement majoritaire :

- autosomique dominant chez le Bullmastiff où elle est due à une mutation non sens au sein du gène RHO (rhodopsine) situé sur le CFA20 [61] ;
- autosomique récessif chez le Terrier Irlandais Glen of Imaal, due à une délétion au sein du gène ADAM 9 (A Disintegrin And Metalloproteinase Domain 9) du CFA16 [66] ;
- autosomique récessif chez le Schapendoes, due à l'insertion d'1 pb au sein de l'exon 6 du gène CCDC66 (coiled-coil domain containing 66) situé sur le CFA20 [34][77] ;

- autosomique récessif chez le Teckel standard à poil ras et dur, due à une délétion de 180 bp au sein de l'exon 5 du gène NPHP4 (nephronophthisis 4) situé sur le CFA5 [114][115].

- autosomique récessif chez le Montagne des Pyrénées, le Mastiff, le Bull mastiff et le Coton de Tuléar due à une mutation au sein du gène BEST1 (bestrophin 1) sur le CFA18 pour les trois premières races et à une autre mutation du gène BEST1 pour le Coton de Tuléar [56]. Cette mutation est à l'origine d'une rétinopathie multifocale ;

- autosomique récessif chez le Berger finnois de Laponie, due à une délétion au sein de l'exon 10 du gène BEST1 sur le CFA18. [119]

- autosomique récessif et lié à une substitution sur le locus PRCD sur le CFA9, dans 21 races (Cocker américain, Kelpie, Berger australien, Retriever de la baie de Chesapeake, Chien Chinois à Crête, Cocker anglais, Bouvier de l'Entlebuch, Chien finnois de Laponie, Golden Retriever, Chien d'ours de Carélie, Kuvasz, Labrador du Retriever, Lapinporokoirra, Caniches nains et Toy, Elkhoun Norvégien, Retriever de la Nouvelle-Ecosse, Chien d'eau portugais, Chien d'eau espagnol, Yorkshire Terrier) [47][49][117].

- liée au chromosome X et due à deux mutations différentes au sein du gène RPGR (retinitis pigmentosa GTPase regulator) chez le Samoyède et le Husky sibérien [1][118][121].

Tableau I : Bilan des mutations génétiques connues responsables d'APR

Gène	Chromosome	Mutation	Type d'APR	Race concernée
RPE65	CFA6	Délétion 4 pb	Cécité de nuit (cnsb)	Berger de Brie, Beagle
STL38L1	CFA27		Dégénérescence rétinienne précoce (erd)	Chien d'eau Norvégien
PDE6B	CFA3	mutation non sens exon 21	Dysplasie des cônes et des bâtonnets (rcd1)	Setter Irlandais
PDE6B	CFA3	Insertion 8 pb exon 21	Dysplasie des cônes et des bâtonnets (rcd1a)	Sloughi
PDE6A	CFA3	Délétion 1 pb codon 816	Dysplasie des cônes et des bâtonnets (rcd3)	Welsh Corgi Cardigan
RD3	CFA7	Simple polymorphisme chez le Schnauzer nain	Dysplasie des cônes et des bâtonnets (rcd)	Colley, Schnauzer nain
CNGB3	CFA29	délétion de tous les exons	Dysplasie des cônes (cd)	Alaskan Malamute
CNGB3	CFA29	mutation faux sens	Dysplasie des cônes (cd)	Braque Allemand
RHO	CFA20	mutation non sens	Dégénérescence des bâtonnets et des cônes (prcd)	Bullmastiff
ADAM9	CFA16	délétion	Dégénérescence des bâtonnets et des cônes (prcd)	Terrier Irlandais Glen of Imaal
CCDC66	CFA20	Insertion 1 pb exon 6	Dégénérescence des bâtonnets et des cônes (prcd)	Schapendoes
NPHP4	CFA5	180 pb exon 5	Dégénérescence des bâtonnets et des cônes (prcd)	Teckel standard à poil ras
PRCD	CFA9	substitution G->A	Dégénérescence des bâtonnets et des cônes (prcd)	21 races
RPGR	CFA X	plusieurs micro délétions	Dégénérescence des bâtonnets et des cônes (prcd)	Samoyède, Sibérien Huskie

## 5. L'APR chez le Border Collie

Le Border Collie est atteint par une dégénérescence des photorécepteurs se traduisant par une perte progressive de la vision avec, dans un premier temps, une cécité nocturne puis une diminution du champ visuel périphérique pouvant conduire à une cécité complète. Les signes cliniques apparaissent en général après l'âge de 2 ans [99]. Le nombre de mâles atteints est très largement supérieur à celui des femelles [24].

Lors des stades précoces, on observe des lésions hyperréfléchissantes du tapis : focales périphériques ou plus rarement centrales, centrées ou non sur une tache pigmentée. La symétrie des lésions n'est pas forcément présente (figure 9).

Dans les stades plus évolués, on peut observer la coexistence d'une hyperréflexion diffuse par coalescence de lésions focales dont certaines sont encore visibles, avec de possibles migrations pigmentaires dans la zone du tapis. Dans les stades évolués, le calibre vasculaire est très diminué et la papille est grise.

La réalisation d'un ERG n'est réellement informative au plan diagnostique que s'il y a déjà des lésions multifocales [112].

Des travaux menés en collaboration par Chaudieu et Vilboux ont montré que l'APR chez le Border Collie était liée au chromosome X [112].

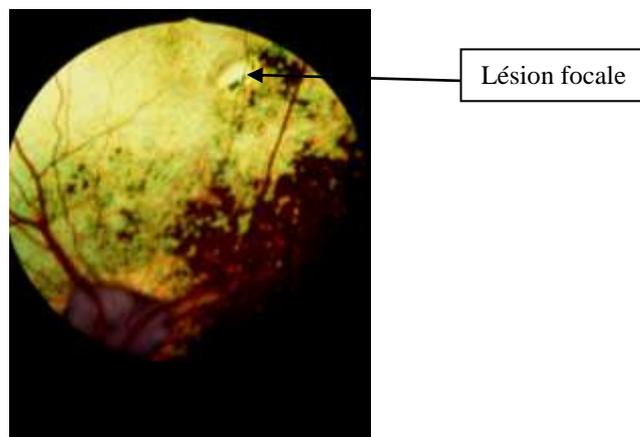


Figure 10 : Rétinographie : fond d'œil d'un Border Collie atteint d'une lésion focale d'APR (image fournie par le Dr Chaudieu)

## D. Détermination du mode de transmission et d'identification d'une anomalie génétique [35]

### 1. Détermination du mode de transmission d'une maladie génétique par l'étude du pédigrée

Lors de la détermination du mode de transmission d'une maladie génétique à partir de l'étude du pédigrée, nous pouvons envisager deux cas : celui où les animaux atteints sont connus et répertoriés sur plusieurs générations et celui où les animaux atteints n'ont pas été répertoriés parmi les ascendants. Nous nous plaçons dans le cas de la génétique mendélienne, c'est-à-dire que dans la population étudiée, le caractère observé, qu'il soit normal ou pathologique, est régi par un seul gène auquel correspond un seul couple d'allèles (noté  $a$  dans le cas d'un allèle mutant récessif avec  $a^+$  l'allèle sauvage correspondant et  $A$  dans le cas d'un allèle mutant dominant avec  $A^+$  l'allèle sauvage).

#### a. Animaux atteints connus et répertoriés sur plusieurs générations

- Anomalies autosomiques

Dans le cas des anomalies autosomiques les gènes sont portés par les autosomes, chaque individu possède donc deux allèles pour un gène donné. Un individu donné pourra être soit homozygote pour ce gène ( $A^+A^+$ ,  $AA$ ,  $a+a^+$ , ou  $aa$ ) soit hétérozygote ( $A^+A$  ou  $a+a$ ).

#### ✓ Anomalie autosomique récessive

Pour qu'un individu soit atteint il faudra qu'il soit homozygote pour l'allèle muté ( $aa$ ). En effet chez les hétérozygotes l'expression du phénotype muté est masqué par l'expression du phénotype sain qui domine (l'hétérozygote est donc porteur de l'anomalie). Ce mode de transmission est le plus fréquent pour les maladies héréditaires des couches externes de la rétine.[35]

Les règles régissant les anomalies autosomiques récessives sont les suivantes [40] :

- Des individus atteints peuvent naître de parents indemnes (figure 11), théoriquement dans la proportion de 25% si les deux parents indemnes sont hétérozygotes ;

- Les accouplements de sujets sains avec un sujet atteint donnent naissance à des individus sains dans la majorité des cas. Si l'anomalie apparaît parmi la descendance c'est que le parent sain était en fait hétérozygote porteur, l'anomalie apparaissant donc théoriquement dans 50% de la descendance ;
- Accouplés entre eux, les animaux atteints ne donnent que des descendants atteints ;
- L'apparition de l'anomalie se fait préférentiellement dans certaines familles ; elle peut passer inaperçue pendant plusieurs générations ;
- Sous l'effet de la consanguinité, la fréquence de l'affection augmente car il existe de nombreux sujets porteurs dans cette population (c'est souvent le cas dans certaines lignées pour une race et une maladie donnée).

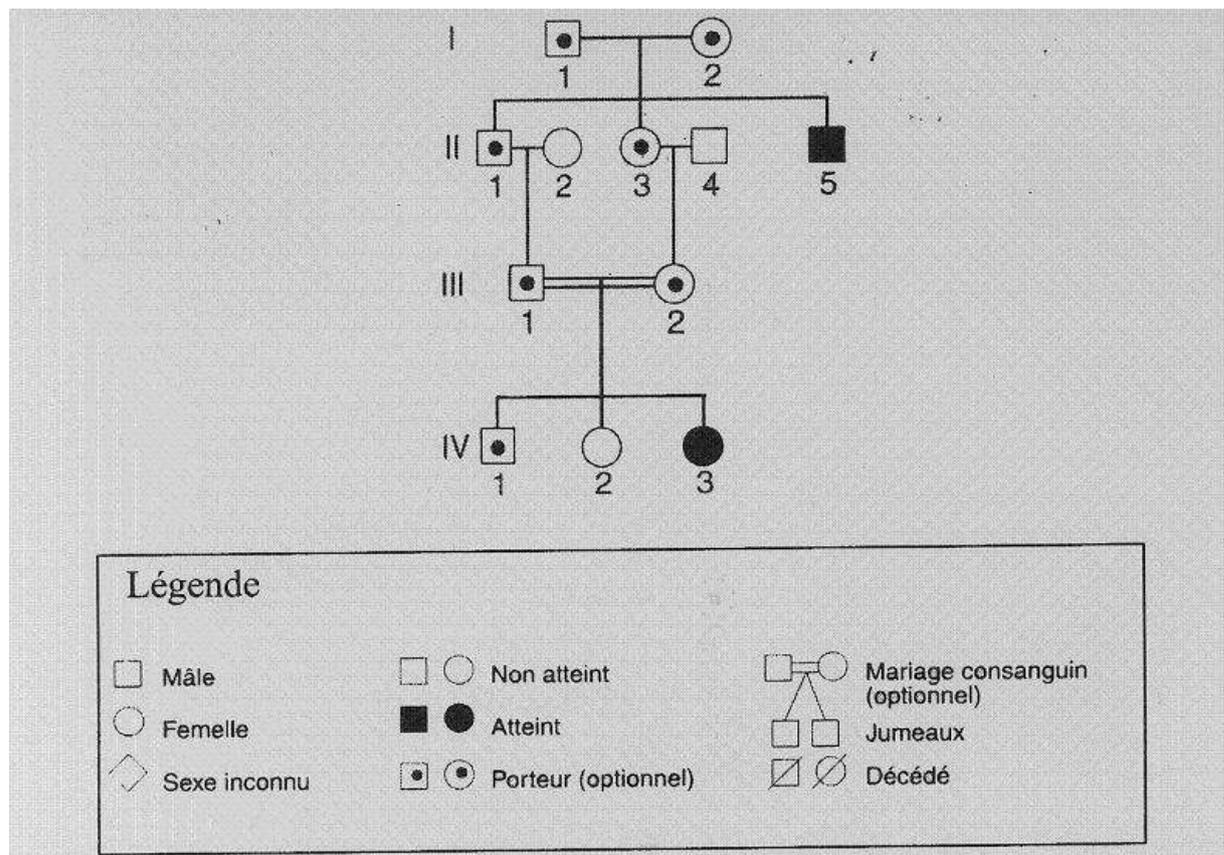


Figure 11 : Mode de transmission des maladies autosomiques récessives (d'après [35])

✓ Anomalie autosomique dominante :

On parle de maladie autosomique dominante lorsqu'à chaque fois que l'allèle muté est présent, l'individu est atteint (les individus hétérozygotes  $A+A$  et homozygote  $AA$  seront atteints). Un accouplement entre deux individus sains ne pourra pas donner d'individus atteints.

Nous pouvons retenir les règles suivantes concernant les anomalies autosomiques lorsque la pénétrance est complète [40] :

- Tout sujet atteint a l'un au moins de ses deux parents qui est atteint ;
- Les accouplements de sujets sains avec un sujet atteint donnent statistiquement 50% de descendants sains et 50% d'atteints (figure 12) ;
- Les descendants sains issus d'un parent atteint, accouplés avec des sujets indemnes n'engendrent que des animaux indemnes;
- Accouplés entre eux, deux sujets atteints peuvent donner naissance à des animaux sains, en théorie 25% des descendants seront sains si les deux parents sont hétérozygotes.

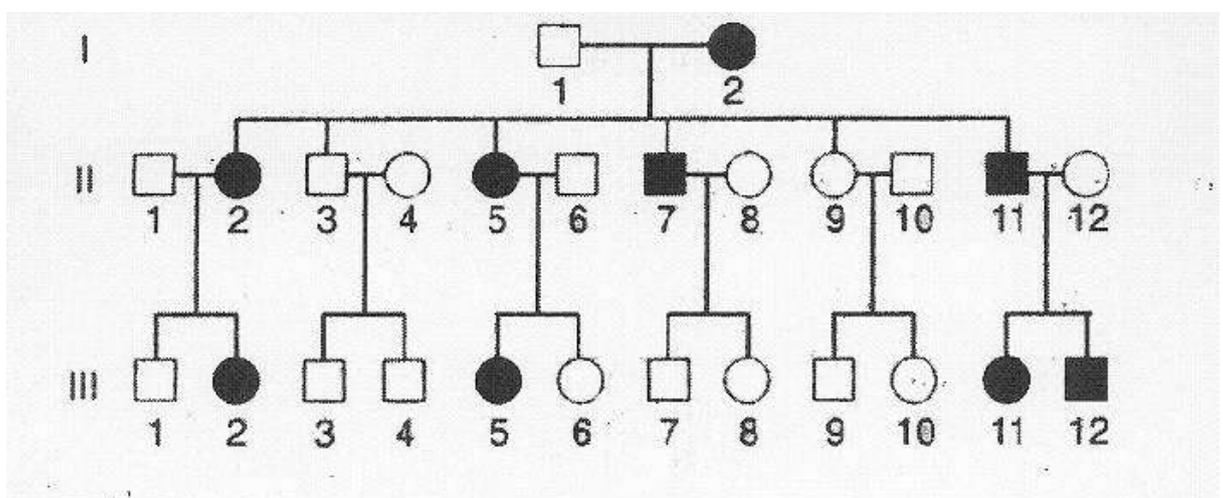


Figure 12 : Mode de transmission des maladies autosomiques dominantes (d'après [35], les légendes sont les mêmes que celle de la figure 11)

Bien souvent, la transmission de la maladie se fait selon une pénétrance incomplète, dans ce cas, l'allèle récessif s'exprime de manière plus ou moins marquée. La pénétrance de l'allèle dominant sera plus marquée chez l'homozygote que chez l'hétérozygote. Il peut s'avérer difficile lors de l'étude d'un pédigrée de faire la différence entre une anomalie transmise sur le mode récessif à pénétrance complète d'une anomalie transmise sur le mode dominant à pénétrance incomplète.

La dominance à pénétrance incomplète a les propriétés suivantes [35] :

- Présence d'animaux atteints à chaque génération avec naissance d'animaux atteints issus de deux sujets sains (figure 13) ;
- Coexistence de comportements de type récessif et de type dominant.

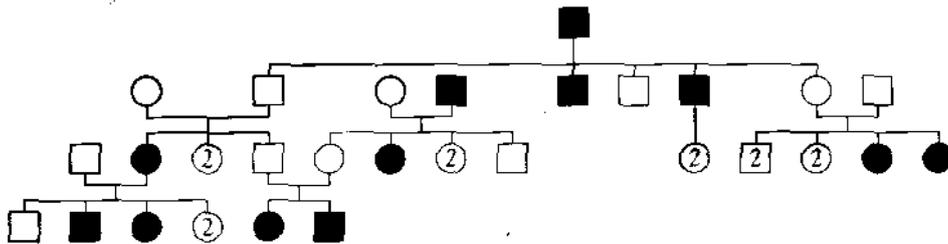


Figure 13 : Mode de transmission des maladies autosomiques dominantes à pénétrance incomplète (d'après [35], les légendes sont les mêmes que celle de la figure 11)

- Anomalies liées au sexe

Dans ce cas, le gène responsable de l'anomalie se situe sur l'un des deux chromosomes sexuels (X ou Y). Le chromosome X contient bien plus de gènes que le chromosome Y, ce qui explique que la plupart du temps les anomalies liées au sexe sont dus à une mutation d'un gène situé sur le chromosome X. Il existe tout de même des maladies ou phénotypes liés à l'Y. Lorsque l'anomalie est portée par le chromosome X, les femelles auront deux allèles pour le gène concerné et les mâles un seul. Pour les maladies liés à l'Y, les femelles ne possèdent pas le gène concerné et les mâles n'auront qu'un seul allèle.

On peut retenir que pour une maladie récessive liée à l'X :

- L'accouplement d'une femelle hétérozygote et d'un mâle sain donne 25% de mâles atteints, 25% de mâles sains, 25% de femelles porteuses hétérozygotes et 25% de femelles saines ;

- L'accouplement d'un mâle atteint et d'une femelle saine donne 0% de mâles affectés et 100% de femelles porteuses hétérozygotes (figure 14) ;

- La prévalence de l'affection est très supérieure chez les mâles. Les femelles homozygotes sont rares.

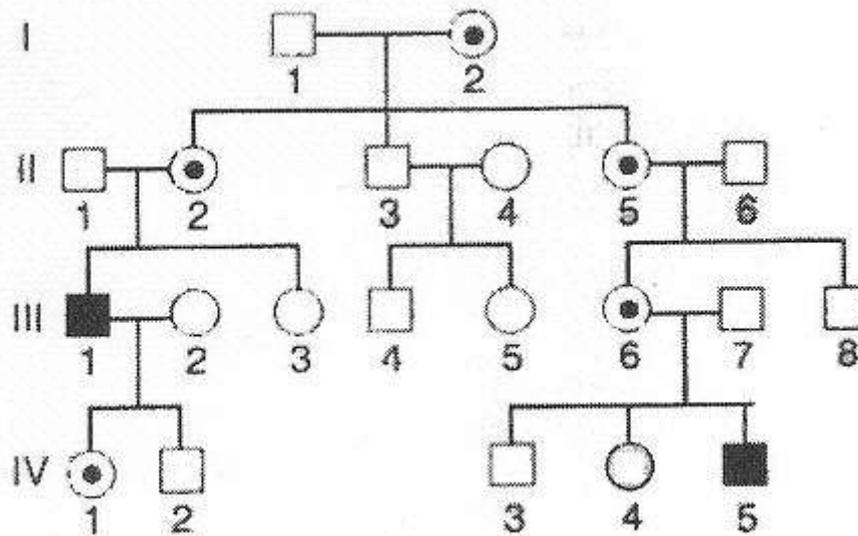


Figure 14 : Mode de transmission des maladies récessives liées à l'X (d'après [35]), les légendes sont les mêmes que celle de la figure 11)

Lors d'une transmission dominante liée à l'X :

- L'accouplement d'une femelle hétérozygote (donc atteinte) et d'un mâle sain donne 25% de mâles atteints, 25% de mâles sains, 25% de femelles atteintes et 25% de femelles saines ;

- L'accouplement d'un mâle atteint et d'une femelle saine donne 0% de mâles atteints et 100% de femelles atteintes (figure 15) ;

- Généralement, il y a deux fois plus de femelles atteintes que de mâles atteints (sauf si la maladie est létale)

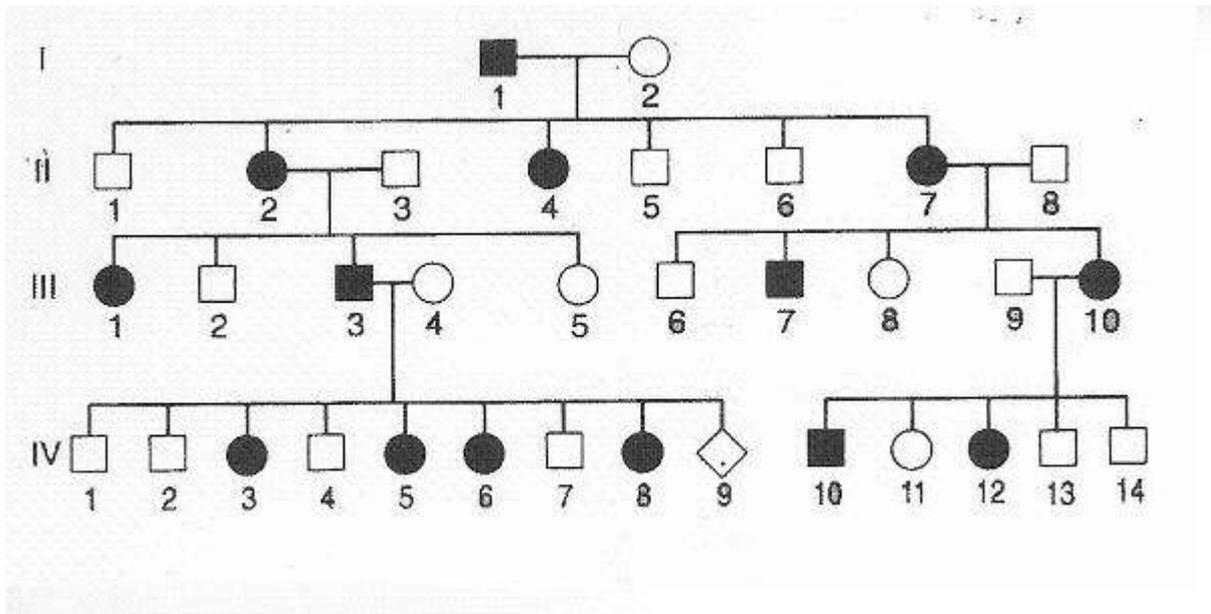


Figure 15 : Mode de transmission des maladies dominantes liées à l’X (d’après [35]), les légendes sont les mêmes que celle de la figure 11)

Lors de transmission holandrique (liée au chromosome Y) :

- L’anomalie affecte seulement les mâles (figure 16) ;
- Tous les mâles affectés ont un père affecté ;
- Tous les fils d’un mâle affecté sont affectés

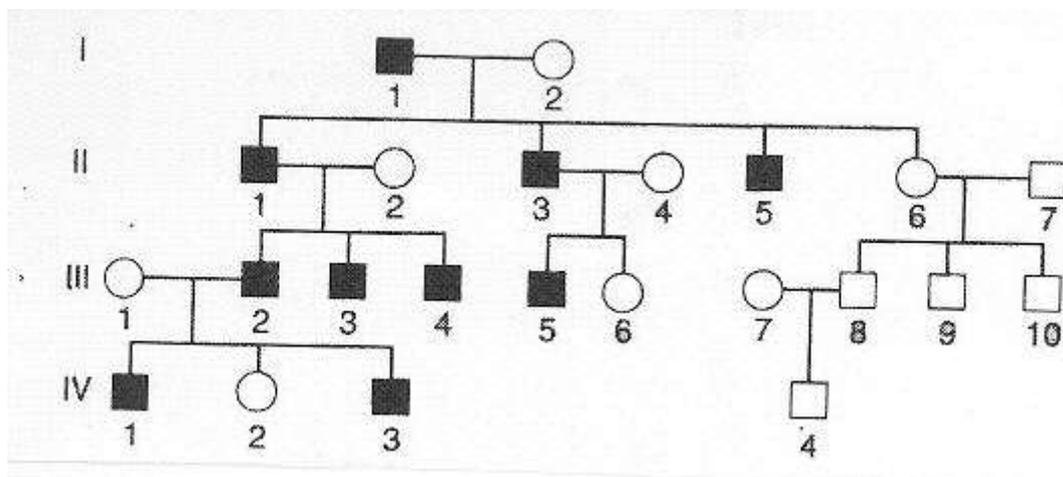


Figure 16 : Mode de transmission des maladies liées à l’Y (d’après [35]), les légendes sont les mêmes que celle de la figure 11)

- Anomalies polyfactorielles

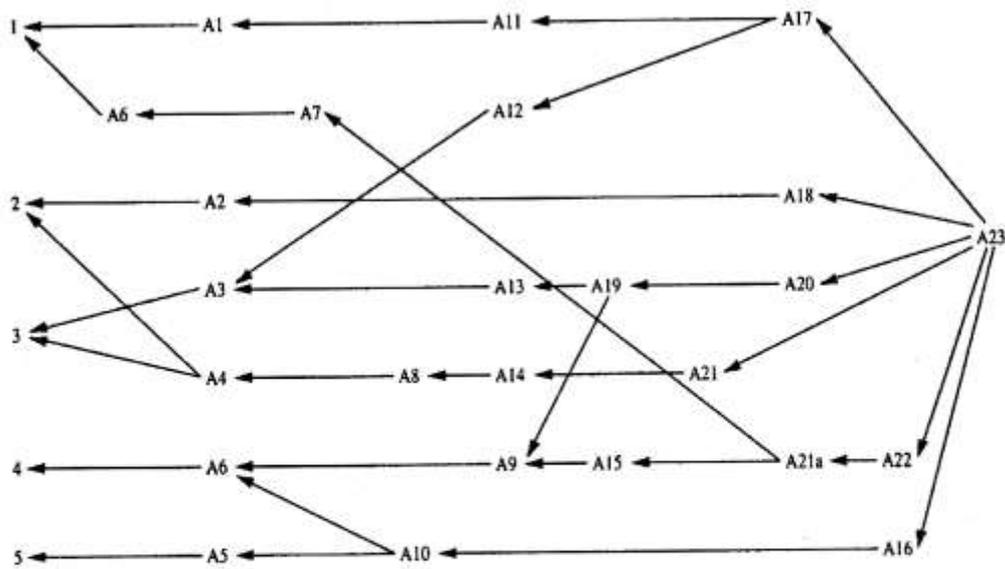
L'anomalie est déterminée par plusieurs gènes, chacun d'entre eux ayant une influence plus ou moins grande quant à l'expression de la maladie. L'action de l'environnement est également nécessaire pour l'expression de la maladie.

On suspectera ce type de transmission lorsque l'étude du pédigrée n'aura pas permis de mettre en évidence une des situations décrites précédemment. [35]

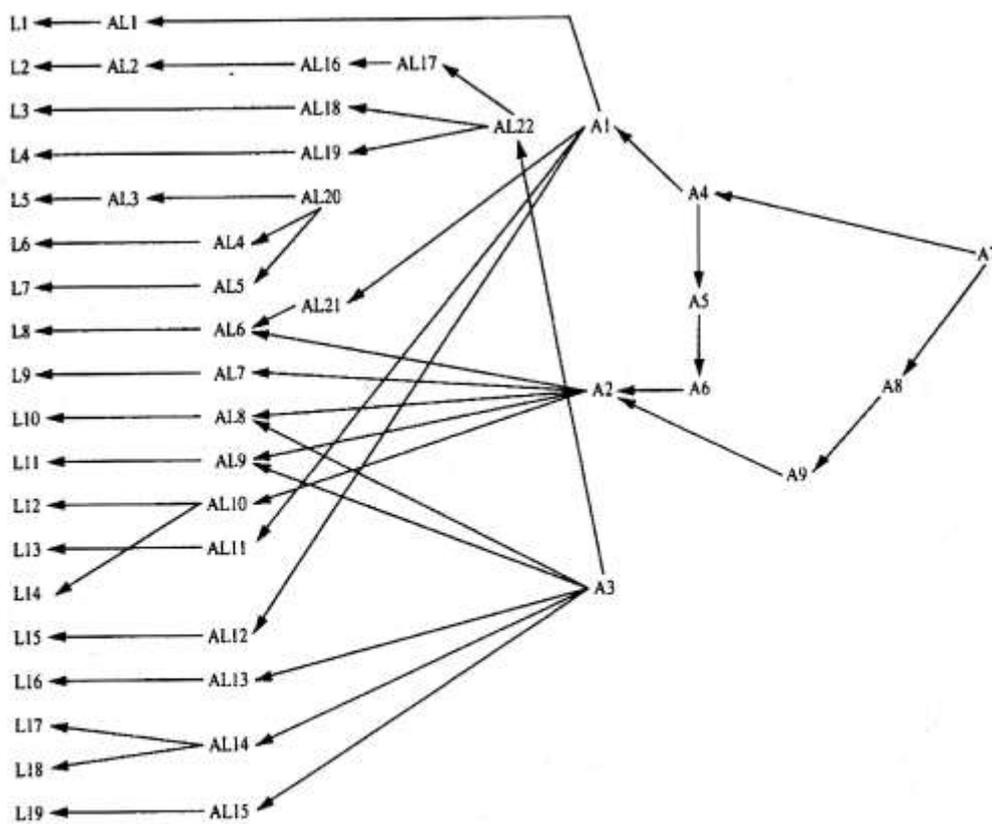
b. Animaux atteints non répertoriés parmi les ascendants [35]

Dans ce cas on peut utiliser le protocole de Lasley, c'est-à-dire :

- Etablir sur au moins quatre générations la filiation de chacun des animaux atteints en attribuant à chacun un numéro de code (figure 17) ;
- Sur la gauche de l'arbre, placer les individus anormaux les uns au-dessus des autres ;
- Tout ancêtre qui apparaît dans deux pédigrées au moins sera placé à droite de la liste des animaux atteints et on établira le pédigrée commun sous forme fléchée ;
- Si on ne trouve pas d'ancêtres en commun aux individus atteints c'est que l'anomalie n'est sans doute pas héréditaire ;
- Si le pédigrée fait apparaître que chaque individu remonte à l'ancêtre commun par deux chaînes d'ascendance, l'anomalie est sûrement récessive. Si, la plupart du temps, une seule chaîne d'ascendance apparaît, l'anomalie est sans doute dominante.



Anomalie autosomale récessive



Anomalie autosomale dominante

Figure 17 : Exemples de pédigrées établis selon le protocole de Lasley (d'après [35])

## 2. Le génome canin

### a. Caryotype du chien

Le chien possède 78 chromosomes (nommés CFA : Canis Familiaris) répartis en 38 paires d'autosomes acrocentriques et une paire de chromosomes sexuels métacentriques (figure 18). Le chromosome X, avec une taille de 128 Mb, est le plus grand chromosome de ce caryotype et le chromosome Y, avec une taille de 27 Mb, est quant à lui le plus petit [62][90].

Le nombre élevé de chromosomes, leur forme et leur taille similaire a rendu l'étude du caryotype canin difficile. Il a été standardisé en 1996 par Switonski et son équipe [104]. En 2001, chaque paire de chromosomes a été reconnue grâce à un marquage avec des sondes BAC chromosome spécifique (Bacterial Artificial Chromosome) et à une carte génomique contenant 1800 marqueurs couvrant plus de 90% du génome canin [17][69].

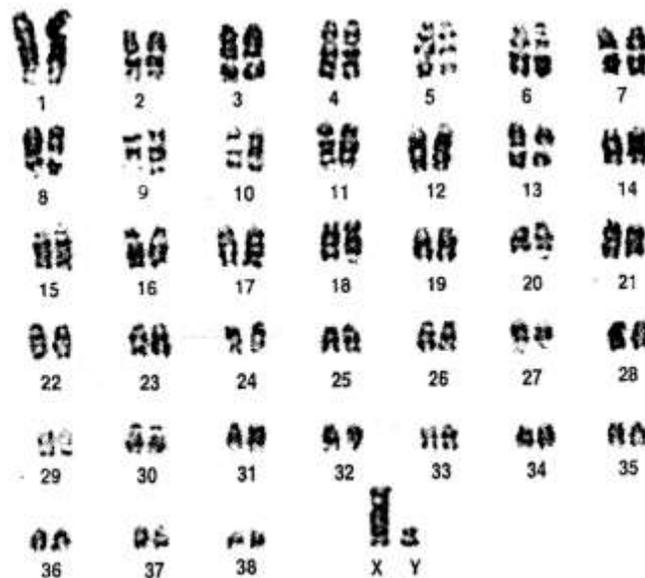


Figure 18 : Caryotype du chien (d'après [69])

### b. Cartes génétiques du chien ([54][100][105])

La détermination d'une carte génétique passe par l'identification, la caractérisation et la mise en ordre de différents marqueurs polymorphes qui pourront ensuite servir à la localisation d'un gène d'intérêt. L'établissement d'une carte génétique suit le principe de la

liaison génétique : plus la distance entre deux marqueurs situés sur un même chromosome est élevée, plus la probabilité de recombinaison entre eux lors de la méiose est grande. La distance génétique séparant deux marqueurs n'est pas proportionnelle à la distance physique. En effet de nombreux facteurs peuvent influencer la probabilité de recombinaison lors de la méiose comme le pourcentage en GC ou la présence de séquences répétées dans la composition de la séquence d'ADN (Acide Désoxyribonucléique) entre les deux marqueurs [17], ou encore le taux de méthylation de l'ADN [18][79].

La distance génétique entre deux marqueurs s'exprime en cM (centiMorgans), 1cM correspondant à un taux de recombinaison ( $\theta$ ) de 1%. Le taux de recombinaison peut varier de 0 à 50%. Plus il est proche de 0, plus les deux marqueurs sont liés. Si il est de 50%, les marqueurs ne sont pas liés génétiquement. Ils peuvent se situer soit sur deux chromosomes différents soit sur un même chromosome.

La première carte génétique du chien a été réalisée en 1997 ([76]) et elle comprenait 16 groupes de liaison. Depuis, le nombre de marqueurs présents sur les cartes génétiques n'a cessé d'augmenter : 150 microsatellites en 1997 [81], 341 en 1999 [113], jusqu'à atteindre 3075 microsatellites répartis sur les 38 autosomes sur une carte réalisée en septembre 2008 [138].

### c. Cartes d'hybrides irradiés (RH)

Une carte d'hybrides irradiés est conçue en calculant la distance statistique entre deux marqueurs, cette distance reflétant les cassures des chromosomes durant l'irradiation des cellules. Pour pouvoir réaliser des cartes d'hybrides irradiés il faut donc commencer par créer un panel RH, c'est-à-dire irradier des cellules du génome d'intérêt puis les fusionner à des cellules hôtes pour que quelques fragments d'ADN irradiés s'intègrent dans les chromosomes des cellules hôtes. Différents clones sont ainsi obtenus, contenant chacun des fragments différents de l'ADN d'intérêt. Dans le cas du chien, l'équipe de génétique du chien de l'UMR 6290 de l'Université de Rennes 1, a utilisé comme cellules hôtes, des cellules de hamster déficientes pour le gène TK (Thymidine Kinase) et ne pouvant pas survivre en milieu sélectif HAT (Hypoxanthine Aminoptérine Thymidine). Ainsi, ils ont pu sélectionner les clones ayant reçu au minimum de l'ADN de chien contenant l'orthologue canin du gène TK leur permettant de survivre en milieu HAT. [110]

La liaison entre les marqueurs, dans les lignées hybrides obtenues, dépend de leur co-rétention au sein des différentes lignées. Plus deux marqueurs sont éloignés dans le génome, plus la probabilité qu'ils se retrouvent dans la même lignée est faible et inversement. [111]

La dernière carte d'hybrides irradiés comportait plus de 10000 marqueurs de gènes et 500 BAC cartographiés par FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) et a été conçue en 2005 par l'équipe de génétique du chien de l'UMR 6290 de l'Université de Rennes 1 en collaboration avec une équipe anglaise et une équipe américaine [57].

#### d. Séquençage

Le but du séquençage est de déchiffrer la succession des bases azotées (A : adénine, C : Cytosine, G : Guanine et T : Thymines) constituant les brins d'ADN. La connaissance de la séquence des acides nucléiques permet de remonter aux gènes et à leurs fonctions.

Le premier séquençage complet du génome du chien a été réalisé en 2004 à partir de l'ADN d'une chienne Boxer [91]. L'intégralité de la séquence d'ADN est visible sur le site internet : <http://genome.ucsc.edu/>. Le choix de cette chienne Boxer s'est fait suite à une analyse préalable du polymorphisme nucléotidique de 120 chiens appartenant à 60 races différentes. Ce boxer est le chien qui présentait le plus faible taux d'hétérozygotie, c'est-à-dire qu'il était le plus faiblement variable génétiquement [91]. Le séquençage a permis d'obtenir 35 millions de séquences qui ont été assemblées en s'aidant de la dernière carte RH [75]. Ainsi 20000 contigs ont été constitués et sont répartis en 87 super-contigs situés sur les 39 chromosomes. Le travail de cartographie précédent a permis de regrouper efficacement ces contigs et de produire une séquence de grande qualité. Au final, le séquençage réalisé couvre 98,5% du génome canin et présente une couverture estimée à 6,5 fois le génome.

Le séquençage d'un grand caniche, avec une couverture du chromosome X avait été réalisé en 2003 par l'équipe américaine du TIGR et a permis un premier ancrage de cartes du génome canin avec une séquence, réalisé en collaboration entre l'institut TIGR et le CNRS [57]. Un séquençage très léger a également été réalisé sur l'ADN de neuf races de chiens (Beagle, Berger Allemand, Chien d'eau portugais, Lévrier italien, Malamute d'Alaska, Retriever du Labrador, Rottweiler, Setter anglais et Bedlington terrier), quatre loups et un coyote et a permis d'obtenir 100000 séquences aléatoires sur chacun des ADN. Ce séquençage léger a permis l'identification de plus de 2,5 millions de SNP [75].

### 3. Méthodes d'identification des causes génétiques de maladies

Les différentes méthodes pouvant être utilisées pour déterminer les anomalies génétiques à l'origine d'une maladie sont décrites dans ce paragraphe.

#### a. La liaison génétique ([54][107][111])

Lors de la formation des gamètes il se produit des recombinaisons méiotiques aléatoires : les chromosomes homologues échangent une portion de leur ADN avant de se séparer. La probabilité de recombinaison méiotique est liée à la distance séparant deux loci : deux marqueurs proches auront une probabilité élevée d'être transmis ensemble, on dit qu'ils sont génétiquement liés. Ainsi, si la cause génétique d'une maladie est proche d'un marqueur ils seront transmis ensemble lors de la méiose. Si ils sont éloignés, il y aura une probabilité plus élevée qu'il se produise une recombinaison entre le marqueur et la cause génétique.

On appelle taux de recombinaison ( $\theta$ ) la distance entre le marqueur et la mutation. La valeur de  $\theta$  varie de 0 (absence de recombinaison entre le marqueur et la mutation) à 0,5 (soit le marqueur et la mutation sont sur deux chromosomes différents soit ils sont assez éloignés sur un même chromosome pour qu'il y ait obligatoirement une recombinaison lors de la méiose). Plus  $\theta$  est proche de 0, plus le marqueur est proche de la mutation.

Au sein d'une famille où ségrège une maladie génétique, on va rechercher des marqueurs polymorphes ayant un  $\theta < 0,5$  avec la région génomique impliquée dans la maladie. Pour déterminer la vraisemblance de la valeur de  $\theta$  au sein d'une famille, nous utilisons la méthode des LOD score (Logarithm of odds) mis au point pour les maladies humaines par Morton en 1955 [87].

Cette méthode est basée sur deux hypothèses :

- $H_0$  : indépendance génétique entre le marqueur et la mutation,  $\theta = 0,5$
- $H_1$  : liaison génétique entre le marqueur et la mutation,  $\theta < 0,5$

On va étudier le nombre de méioses informatives au sein d'une famille jusqu'à pouvoir trancher en faveur de l'une ou de l'autre hypothèse.

Le LOD score d'une famille F1 (noté  $Z(\theta_1)$ ) est le rapport entre la vraisemblance d'observer la ségrégation au sein de la famille si  $\theta = \theta_1 < 0,5$  sur la vraisemblance d'observer la ségrégation si  $\theta = 0,5$  :

$$Z(\theta_1) = \log_{10} \frac{P(F1/\theta_1)}{P(F1/0,5)} = LOD\ score = \log_{10} \frac{\text{Probabilité de liaison}}{\text{Probabilité de non liaison}}$$

Selon les valeurs de  $Z(\theta_1)$  obtenues, on peut conclure que :

- $H_0$  est rejetée, et qu'il existe une liaison génétique entre le marqueur et la mutation si  $Z(\theta_1) \geq + 3$  pour les maladies autosomiques ou  $Z(\theta_1) \geq + 2$  pour les maladies liées au chromosome X. Avec  $Z(\theta_1) \geq + 3$  le risque de conclure à une liaison alors que les deux locus sont indépendants est de 1/1000, il est de 1/100 avec  $Z(\theta_1) \geq + 2$  ;
- $H_1$  est rejetée et il y a absence de liaison génétique entre le marqueur et la mutation si  $Z(\theta_1) \leq - 2$  ;
- Si  $Z(\theta_1)$  se situe entre - 2 et + 3, on ne peut pas conclure en l'absence de données supplémentaires.

En 2003, Gordon et son équipe [51], ont estimé que le seuil de significativité du LOD score chez le chien pour un caractère autosomique est de 3,2.

#### b. Test génétique d'association ([111])

Le test d'association est basé sur le principe de déséquilibre de liaison (DL) : plus la distance physique entre deux marqueurs est grande, plus le DL est petit. On considère que dans une population donnée, le déséquilibre de liaison après un effet fondateur (à l'origine d'une maladie par exemple), décroît de façon exponentielle au cours des générations et de la distance à la mutation. Ainsi, si la mutation est présente depuis un certain nombre de générations, seuls les marqueurs très proches de la mutation seront en déséquilibre de liaison avec celle-ci, c'est-à-dire qu'ils seront transmis avec cette mutation.

Afin de pouvoir déterminer assez précisément la localisation d'une mutation, le test d'association nécessite d'avoir à disposition des cartes génétiques assez denses en marqueurs ou la séquence du génome. Pour cela nous utilisons en général les marqueurs de type SNP dont la moyenne est d'environ un tous les 1kb chez le chien [75]. En pratique on compare la

proportion des allèles de différents marqueurs chez des individus sains et chez des individus atteints et on réalise un test de  $\chi^2$ . Le test de  $\chi^2$  permet de décider si les valeurs obtenues sont en accord avec celles attendues dans le cas de l'indépendance entre le marqueur et la région génomique impliquée dans la maladie [54]. Dans notre cas, le test de  $\chi^2$  permet de tester l'homogénéité de la distribution allélique. Pour cela on utilise la formule suivante où M est un marqueur à n allèles,  $f_i$  la fréquence de l'allèle i dans le pool d'individus témoins et  $h_i$  la fréquence de l'allèle i dans le pool d'individus atteints :

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(h_i - h_{i \text{ théorique}})^2}{h_{i \text{ théorique}}} + \sum_{i=1}^n \frac{(f_i - f_{i \text{ théorique}})^2}{f_{i \text{ théorique}}} \text{ avec } (n-1) \text{ degrés de liberté}$$

La significativité de la différence entre deux cohortes est obtenue grâce au calcul de l'Odds Ratio (OR) associée à chaque allèle défini par la formule suivante où  $M_1$  représente un allèle dans un effectif à N individus :

$$OR(M_1) = \frac{h_1(2N - f_1)}{f_1(2N - h_1)}$$

Et enfin pour chaque Odds Ratio on calcule un intervalle de confiance (CIS) :

$$CIS: ORe^{(-1,96A)}; ORe^{(+1,96A)}$$

$$\text{Avec } A = \sqrt{\frac{1}{h_1} + \frac{1}{f_1} + \frac{1}{N - h_1} + \frac{1}{N - f_1}}$$

Le choix des témoins est très important lors d'une analyse de liaison au risque de mal interpréter les variations entre témoins et atteints. Il faut aussi que les individus étudiés ne soient pas consanguins, sinon il faudra utiliser un coefficient correcteur de consanguinité.

c. L' « homozygosity mapping » ([46][68][111])

Chez l'homme, il est difficile de réaliser des analyses de liaisons génétiques, dans le cas de maladie récessive rare, car au sein d'une famille le nombre d'individus atteints est trop faible. Cependant il n'est pas rare de retrouver des individus atteints issus de parents apparentés. On peut utiliser les informations issues de ces individus atteints consanguins pour augmenter le nombre d'individus atteints dans les analyses et ainsi localiser la mutation à

l'origine de la maladie. Le principe est qu'un individu atteint d'une maladie récessive a sûrement reçu deux allèles morbides identiques du fait de la consanguinité dans son ascendance. Partant du même principe, il est fortement possible de retrouver des marqueurs à l'état homozygote à proximité des allèles responsables de la maladie. Cette méthode présente toutefois le désavantage que des individus consanguins possèdent un grand nombre de marqueurs à l'état homozygote. Il faut donc comparer les données issus de plusieurs individus atteints consanguins mais sans lien de parenté entre eux pour exclure les loci non liés à la maladie et déterminer une seule région du génome où tous les individus atteints sont homozygotes mais pas les individus sains. Le locus morbide aura alors une forte probabilité de se trouver dans cette région.

Cette méthode est facilement utilisable chez le chien car la consanguinité est souvent présente au sein de son pédigrée.

d. Paires de germains ([111][122])

Cette méthode est basée sur le fait que des germains (paires de frères et sœurs) malades auront des marqueurs génétiques liés à la maladie qui se ressemblent plus que ne le voudrait le hasard. Pour chaque paire, on va déterminer l'IBD (« Identity By Descent ») c'est-à-dire, le nombre d'allèles parentaux identiques pour chaque marqueur. L'IBD aura la valeur de 0, si les deux germains n'ont pas d'allèles en commun, de 1 si ils ont un seul allèle en commun et de 2 si ils ont deux allèles en commun. Ensuite, on mesure les proportions de chaque IBD dans toutes les paires que l'on note respectivement  $z_0$ ,  $z_1$  et  $z_2$  et grâce à un test de  $\chi^2$  à deux degrés de liberté on compare la distribution de l'IBD obtenue avec celle attendue lors de l'absence de liaison (c'est à dire  $\frac{1}{4}$  pour IBD = 0,  $\frac{1}{2}$  pour IBD = 1 et  $\frac{1}{4}$  pour IBD = 2) selon la formule suivante.

$$\frac{(z_0 - \frac{1}{4})^2}{\frac{1}{4}} + \frac{(z_1 - \frac{1}{2})^2}{\frac{1}{2}} + \frac{(z_2 - \frac{1}{4})^2}{\frac{1}{4}} = \chi^2$$

e. Stratégies des gènes candidats [111]

Cette méthode est basée sur une étude physiopathologique consistant à rechercher parmi des gènes connus si une mutation de l'un d'eux permet d'expliquer la maladie. Selon

les cas, la recherche de gènes candidats, peut se révéler rapidement fructueuse (lorsque le gène a déjà été identifié comme la cause de la maladie recherchée dans une autre race par exemple), ou plus difficile à mettre en œuvre, face à un nombre de gènes candidats trop important à étudier ou si le gène n'est pas encore annoté dans le génome.

En général cette méthode est utilisée lorsqu'un locus lié à la maladie a été identifié et on analyse alors les gènes (nommés gènes candidats positionnel) situés sur ce locus.

Ainsi, l'APR est une maladie entraînant la dégénérescence des photorécepteurs de la rétine. A l'heure actuelle, 14 mutations génétiques différentes ont été identifiées chez le chien comme étant responsable de l'apparition de cette maladie dans plus de 30 races. Selon les races, elle peut se transmettre selon un mode autosomique récessif, autosomique dominant ou être liée au chromosome X.

Le Border Collie est atteint d'une forme particulière d'APR, avec dégénérescence des photorécepteurs se traduisant par une perte progressive de la vision, avec dans un premier temps une cécité nocturne puis une diminution progressive de la vision périphérique. Dans cette race le nombre de mâles atteints est très largement supérieur à celui des femelles, et il est possible de rencontrer des individus atteints unilatéraux.

La dernière carte génétique du chien comporte 3075 microsatellites répartis sur les 38 autosomes, la dernière carte d'hybrides irradiés comporte, quant à elle, plus de 10000 marqueurs de gènes et 500 BAC. Le séquençage recouvre 98,5% du génome canin et a permis l'identification de plus de 2,5 millions de SNP.

Parmi les différentes méthodes d'identification des causes génétiques de maladies, le test génétique d'association et la stratégie de gènes candidats ont été utilisés lors de nos recherches d'une mutation génétique à l'origine de l'APR chez le Border Collie.

## II. Etude expérimentale

### A. Contexte de l'étude

Notre travail de recherche s'est déroulé au sein de l'équipe « génétique du chien » à l'UMR6290 à Rennes, à partir de l'été 2010, sur la base des recherches déjà réalisées par Chaudieu, Vilboux et Lafont.

L'UMR6290 recrute, depuis une dizaine d'années, des prélèvements sanguins de Border Collie atteints d'APR ainsi que de leurs familles. Ce recrutement s'effectue principalement au cours de journées de dépistages des maladies oculaires organisées par l'AFBC en collaboration avec le Dr Chaudieu. Ces journées de dépistage sont aussi l'occasion de faire le point, sur cette maladie et les avancées de la recherche, avec les propriétaires. Elles se déroulent généralement aux mêmes lieux d'une année sur l'autre. J'ai ainsi pu suivre l'évolution de certains chiens lors de deux journées s'étant déroulées à un an d'intervalle à Charnizay (37).

La sensibilisation de l'AFBC et de nombreux propriétaires de Border Collie aux problèmes engendrés par l'APR dans leur race, nous permet d'avoir, à l'heure actuelle, l'ADN de plus de 630 Border Collie, dont plus de 50 chiens atteints.

Afin d'étudier les liens de parentés, entre les différents Border Collie, dont le laboratoire possède un échantillon d'ADN, Vilboux avait réalisé en 2007 un arbre généalogique regroupant ces chiens.

Des études antérieures menées par Chaudieu [24], puis par Vilboux [111][112], ont permis de proposer que l'APR chez le Border Collie se transmet selon un mode récessif, liée au chromosome X. Les deux mutations déjà connues comme étant responsables d'une APR liée au chromosome X dans d'autres races ont alors été exclues suite au séquençage des deux gènes, XLPRA1 et XLPRA2, chez le Border Collie. En 2008, pour rechercher le gène et la mutation responsables, Vilboux a effectué le génotypage de 57 chiens avec 63 marqueurs microsatellites localisés sur le chromosome X permettant l'identification d'un locus de 12Mb (Mégabase) situé entre 77Mb et 89Mb [112]. En 2010, Estèle Lafont a poursuivi le génotypage sur 100 chiens, cette fois, sur tout le génome à l'aide d'une « puce » (Canine HD

SNParray, Illumina) comportant 170000 marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism) puis mené une étude génétique d'association à l'aide du logiciel Plink. [134]

Notre travail de recherche s'est déroulé en quatre points :

- La création d'une base de données regroupant les informations contenues dans les certificats de dépistage des MHOC des Border Collie, que nous possédions ou non un échantillon d'ADN des chiens. Cette base nous a permis d'étudier à plus grande échelle la prévalence de cette maladie au sein du cheptel français ;
- Compléter l'arbre généalogique créé par Vilboux avec les nouveaux chiens recrutés depuis ;
- Une étude génétique d'association, à partir des données du génotypage réalisé, avec une « puce » comportant 170000 marqueurs SNP, obtenues par Lafont ;
- La recherche et l'étude d'un gène candidat pouvant être responsable de l'APR chez le Border Collie, à partir des résultats de l'étude génétique d'association.

## **B. Matériels et Méthodes**

### **1. Base de données de certificats de dépistage des MHOC**

#### **a. Matériels**

Nous disposons de 2037 certificats de dépistage des MHOC (figure 19) établis entre 1998 et 2012 qui nous ont été fournis soit directement par les propriétaires des chiens, soit par l'AFBC (exemplaire envoyé par le propriétaire au club de race).

**CERTIFICAT INTERNATIONAL DE DEPISTAGE**

**DES MALADIES HEREDITAIRES  
OCULAIRES CANINES**

Protocole en accord  
avec la Société Centrale Canine  
et les clubs de races

N° 00000000

**Animal**

Nom: \_\_\_\_\_ Race: \_\_\_\_\_ Sexe: \_\_\_\_\_ Né(e) le: \_\_\_\_\_  
 N° LOF: \_\_\_\_\_ N° transpondeur: \_\_\_\_\_ N° tatouage: \_\_\_\_\_  
 Existence d'un certificat antérieur:  Oui  Non Conclusion antérieure: Indemne

**Maladie(s) héréditaire(s) oculaire(s) canine(s) recherchée(s)**

Cataracte congénitale      Dégénérescences rétiniennes progressives      Entropion  
 Dysplasie rétinienne      Ectropion      Goniodyspasie

**Propriétaire**

Monsieur: XX      demeurant à: ZZ      Fait à: \_\_\_\_\_ le: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Code postal: 00000      Ville: AAAAAAAAAAAAAAAAAA      **Signature du propriétaire du chien :** \_\_\_\_\_

\*Le soussigné certifie avoir eu connaissance des conditions de l'examen pratiqué sur son chien et :  
 - accepte que ces résultats soient transmis au Club de race pour utilisation, diffusion, et/ou publication en tant qu'informations utiles à la sélection dans le cadre de ses missions  
 - certifie que ce chien n'a subi, à ma connaissance, ni traitement médical, ni intervention chirurgicale susceptible de modifier les conclusions de l'examen.

**Examen**

effectué le: 00/00/0000 à \_\_\_\_\_

**Techniques imposées:**  
 Mydriase, Ophthalmoscopie indirecte et biomicroscopie binoculaire

**Techniques optionnelles:**

Ophthalmoscopie directe       Gonioscopie  
 Tonométrie       ERG  
 Angiographie fluores       Echo-ophthalmographie

**N° tatouage**      **N° transpondeur**

correct       correct  
 partiellement visible       incorrect  
 incorrect       absent  
 absent

**Conclusion**

Cet animal a été trouvé **INDEMNÉ** de maladies oculaires canines, présumées ou reconnues héréditaires, à ce jour.

	Indemne	Douteux **	Absent		Indemne	Suspect ***	Atteint
Microphthalmie chien d'un an mini.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Entropion	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Persistence Membrane Pupillaire	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Ectropion	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Goniodyspasie	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Trichiasis	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
PHTVL / PHPV	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Distichiasis	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cataracte congénitale	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Dystrophie cornéenne	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dysplasie de rétine	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	focal	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hypoplasie de la papille	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	géo.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dysplasie-hypoplasie choroldienne	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	total	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Colobome de la papille	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cristallin : cataracte	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
				Cristallin : luxation	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
				Dégénérescence rétinienne progressive	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

\*\* L'absence de ces signes qui peuvent correspondre à l'affection, mais ils sont trop peu significatifs.  
 \*\*\* L'absence de ces signes n'exclut pas l'affection. A revoir dans 12 mois

Commentaire(s): \_\_\_\_\_

**Casier et signature**

**Vétérinaire**

Dr. XXXXXXXXXXXX, n°national: 000000, certifie avoir examiné l'animal ci-dessus pour la recherche de maladies héréditaires oculaires canines, et avoir vérifié moi-même l'identifiant de ce chien.  
 Certificat émis le : 00/00/0000

- exemplaire remis au propriétaire et destiné au club de race -

Figure 19 : Certificat International de dépistage des maladies héréditaires oculaires canines (MHOC)

## b. Méthodes

Afin d'étudier l'importance de l'APR, chez le Border Collie en France, nous avons créé une base de données à partir des renseignements fournis par les certificats de dépistage des MHOC. Nous avons réalisé une base de données sous la forme d'un tableur Excel regroupant les renseignements fournis par l'ensemble des 2037 certificats oculaires à notre disposition : nom de l'animal, date de naissance, identification de l'animal, date de l'examen oculaire, vétérinaire praticien, méthodes d'examen utilisées, conclusions de l'examen.

A partir de cette base de données, nous avons évalué la prévalence de l'APR chez le Border Collie en France, comparé la prévalence de cette maladie chez les mâles et chez les femelles et étudié, lorsque cela était possible, son évolution chez un animal atteint (en particulier l'évolution des chiens atteints unilatéraux).

## 2. Etude généalogique

### a. Matériels

L'arbre généalogique créé par Vilboux en 2007 a été complété avec les informations concernant les chiens recrutés depuis. Nous nous sommes aidés des pédigrées fournis par les propriétaires, lors des journées de dépistage, mais aussi du logiciel de recherche des ascendants/descendants disponible sur le site internet de l'AFBC [123].

L'arbre généalogique a été réalisé avec le logiciel Cyrillic [124].

### b. Méthodes

Nous avons entré dans le logiciel Cyrillic les données concernant chaque chien (nom, date de naissance, numéro d'identification, propriétaire, statut par rapport à l'APR) ainsi que ses parents. Ce logiciel nous permet de vérifier si un chien avait déjà été entré dans l'arbre généalogique. Ceci permet d'éviter les doublons et de trouver de nouveaux liens de parentés entre chiens. Nous avons complété l'arbre généalogique grâce au logiciel de l'AFBC qui permet de rechercher les descendants d'un chien donné.

Nous avons ensuite vérifié les informations concernant le statut, de chaque chien, vis-à-vis de l'APR, dans notre arbre généalogique, notamment dans la partie créée par Vilboux. Pour cela, nous avons utilisé les informations contenues dans la base de données de certificats de dépistage des MHOC.

Nous avons également réalisé des arbres généalogiques intermédiaires, autour de chiens fondateurs, à partir de l'arbre généalogique global afin d'en faciliter la lecture.

Nous avons également envoyé aux éleveurs, des parties de notre arbre généalogique regroupant les chiens de son élevage, afin qu'il complète les informations à notre disposition, notamment concernant la descendance de chiens atteints ou porteurs sains.

### 3. Etude génétique d'association

#### a. Matériels

Entre 2010 et 2011, les ADN de 100 Border Collie ont été génotypés à l'aide d'une puce Illumina 170 000 SNP répartis sur le génome entier (« Canine HD SNParray Illumina »). A partir de ces résultats de génotypage, nous avons réalisé une étude d'association génétique sur 74 chiens :

- 15 chiens diagnostiqués indemnes après l'âge de 5ans,
- 25 chiens atteints bilatéralement,
- 11 chiens atteints unilatéralement,
- 23 chiens, diagnostiqués indemnes avant l'âge de 5 ans, que nous avons considérés comme indemnes, mais que nous continuons de suivre pour vérifier leur statut.

Les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel Plink [134], puis les résultats ont été importés sur le site UCSC [139] qui permet d'accéder au génome canin et à son annotation.

## b. Méthodes

Le logiciel Plink réalise des analyses statistiques basées sur le calcul de  $\chi^2$ . Si la valeur de p-value obtenue est inférieure ou égale à  $10^{-5}$ , cela signifie qu'il y a une association entre la maladie et un ensemble de SNP dans une région chromosomique donnée (la valeur de  $10^{-5}$  indique un risque sur 100000 de se tromper en estimant que le SNP en question soit lié à la maladie).

Les résultats ont été importés sur le site UCSC [139], sous la forme d'un graphique, permettant de localiser les marqueurs SNP ayant les meilleurs résultats statistiques. Ce graphique nous permet alors de connaître les gènes présents sur la région du chromosome correspondante.

## 4. Analyse d'un gène candidat

### a. Recherche du gène candidat

- Matériels

Nous avons utilisé les sites internet d'analyse des génomes « ensembl » et « genecards » [125][127] et le site OMIM [133] afin d'obtenir des informations concernant les gènes situés dans les régions ayant obtenues les meilleurs résultats statistiques lors de notre étude d'association.

- Méthodes

Nous avons cherché sur les sites internet d'analyse des génomes « ensembl » et « genecards » [125][127], la répartition tissulaire des EST (« expressive sequence Tag ») de chacun des gènes, afin de voir si celui-ci est connue comme exprimé ou non dans la rétine.

Nous avons en parallèle, recherché sur le site OMIM [133] si, parmi les gènes localisés dans les régions les plus associées statistiquement, certains étaient déjà répertoriés comme impliqués dans le développement d'une maladie oculaire, ou impliqués dans le cycle visuel.

Les différentes analyses génétiques et statistiques nous ont permis de sélectionner des loci candidats, contenant de nombreux gènes, et parmi ceux-là, de choisir un gène candidat que nous avons étudié.

La sélection de gènes candidats s'est faite dans les loci candidats, en fonction des valeurs statistiques obtenues lors de l'étude génétique d'association. Nous nous sommes ensuite intéressés à la physiopathologie des gènes contenus dans ces loci candidats et nous avons recherché s'ils étaient connus comme exprimé dans la rétine. Ce travail nous a permis de sélectionner un gène candidat ayant la meilleure adéquation entre les valeurs statistiques d'association des marqueurs SNP situés à proximité, sa potentielle implication dans la physiopathologie de la maladie et son expression dans la rétine.

#### b. Choix des animaux testés

- Matériels

Nous avons analysé le gène candidat sélectionné sur 8 individus apparentés dont nous possédons un échantillon sanguin sur tube EDTA :

- 3 femelles déclarées indemnes après l'âge de 5 ans (nommées par la suite A, B et C),
- 1 mâle déclaré indemne après l'âge de 5 ans (nommé D),
- 2 mâles atteints bilatéralement (nommés E et F),
- 1 mâle atteint unilatéralement (nommé G),
- 1 mâle dont nous ne connaissons pas le statut vis-à-vis de l'APR (nommé H).

Les liens de parentés entre ces différents individus sont représentés sur la figure 20.

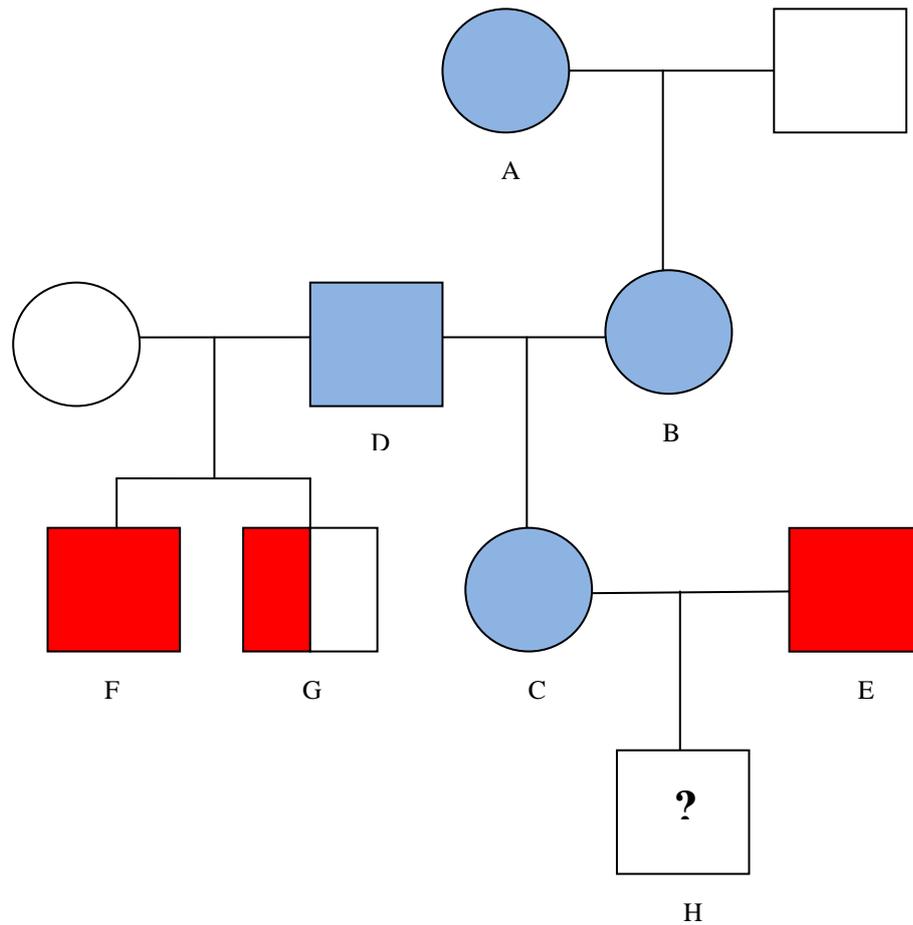


Figure 20 : Liens de parenté entre les individus testés (les chiens sains sont représentés en bleu, les mâles atteints bilatéralement en carré rouge plein et le mâle atteint unilatéralement par un carré rempli à moitié en rouge)

- Méthodes

Parmi les 630 Border Collie dont nous possédons un prélèvement sanguin, nous avons choisi d'étudier notre gène candidat sur un nombre restreint d'individus apparentés, dans un premier temps et, suivant les résultats obtenus, d'étendre ou non l'analyse à un plus grand nombre de chiens.

Nous avons ainsi sélectionné huit chiens afin d'avoir à la fois des mâles et des femelles, des chiens sains, atteints unilatéral et atteints bilatéral.

### c. Extraction de l'ADN à partir des prélèvements sanguins

- Matériels

Nous avons réalisé l'extraction de l'ADN génomique, à partir des prélèvements sanguins sur tube EDTA, à l'aide du kit d'extraction Nucleospin Blood L. Pour chaque chien, l'extraction d'ADN nécessite :

- 2mL de sang,
- 150 µL de Protéinase K,
- 4mL de Tampon,
- éventuellement 2mL de PBS,
- 2mL d'éthanol,
- 200 µL de tampon spécifique (BE)

- Méthodes

L'extraction des ADN à partir des prélèvements sanguins est réalisée selon le protocole du kit d'extraction (Macherey-Nagel). Les étapes sont les suivantes :

- 1) Lyse des cellules par action de la protéinase K : 2 mL de sang et 150µL de protéinase K, dans 2 mL de tampon de lyse. Le mélange ainsi obtenu est agité fortement au vortex, puis incubé pendant 15 minutes à 56°C. Lorsque nous disposons de moins de 2 mL de sang, nous avons complété à 2 mL avec une solution de PBS (phosphate-buffered saline).
- 2) Ajout de 2 mL d'éthanol afin de précipiter l'ADN
- 3) 3 mL du mélange ainsi obtenu sont disposés dans un tube à élution contenant une membrane de silice puis centrifugés pendant 3 minutes à 4500g afin de permettre la fixation de l'ADN à la membrane de silice.

- 4) Deux lavages successifs de la membrane de silice sont réalisés par ajout de 2 mL de tampon de lavage puis centrifugation à 4500g pendant 2 minutes pour le premier lavage et pendant 10 minutes pour le second.
- 5) L'éluion de l'ADN est réalisé par ajout de 200 µL de tampon spécifique (BE) et incubation pendant 2 minutes à température ambiante avant centrifugation pendant 2 minutes à 4500g.
- 6) La mesure de la densité optique de chaque échantillon est réalisée avec un spectromètre (nanodrop) afin de connaître la concentration en ADN. Après étiquetage des tubes, les échantillons d'ADN sont ensuite conservés à -20°C.

#### d. Choix des amorces d'amplification

- Matériels

Nous avons utilisé le logiciel Primer 3 [135] pour déterminer nos amorces d'amplification puis nous les avons vérifiées sur le site UCSC [139].

- Méthodes

Afin de rechercher une mutation dans notre gène candidat, nous avons réalisé des réactions de séquençage pour chacun de ses exons. Dans un premier temps, nous avons vérifié la bonne annotation des séquences en recherchant les séquences consensus d'épissage, c'est-à-dire AG en amont de l'exon et GT en aval.

Nous avons sélectionné des amorces situés au moins à 50pb en amont et en aval de l'exon, afin de pallier au manque de précision sur les premières paires de bases lors de la réaction de séquençage et d'obtenir une séquence lisible pour les nucléotides impliqués dans la réaction d'épissage.

Afin de standardiser nos conditions de PCR (« Polymerase Chain Reaction »), nous avons toujours utilisé les mêmes conditions de sélection des amorces. Ces conditions sont : des amorces d'environ 20 pb, contenant 50% de GC, une température d'hybridation ( $T_m$ )

entre 60°C et 63°C avec une valeur optimale de 61°C et la taille du produit de PCR ne devant pas excéder 550pb [128].

Enfin sur le site UCSC [139], nous avons vérifié que chacun de nos couples d'amorces étaient spécifique de la région à amplifier.

e. Réaction d'amplification : PCR (« Polymerase Chain Reaction »)

- Matériels

Nous avons utilisé pour chaque réaction de PCR dans un volume final de 10µL :

- 50ng d'ADN,
- 1X de tampon Gold,
- 0,25mM de dNTP,
- 2mM de MgCl<sub>2</sub>,
- 0,5 unités de Taq Gold,
- 0,3 µM de chaque oligonucléotide,

La réaction de PCR se déroule dans un thermocycleur PTC 200 (MJ research).

- Méthodes

La PCR est une méthode d'amplification de l'ADN couramment utilisée. Chaque réaction d'amplification contient 50 ng d'ADN, 1X de Tampon Gold, 0,25mM de dNTP (désoxyNucléotide TriPhosphate) qui permettront l'élongation, 2mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,5 unités de Taq Gold, enzyme polymérase qui réalise la réaction de polymérisation, 0,3µM de chaque oligonucléotide et nous avons complété avec de l'eau stérile Baxter afin d'obtenir un volume final de 10 µL.

La réaction de PCR se déroule dans un thermocycleur selon les cycles de température suivants (amplification dite en « touch-down » permettant une amplification spécifique) :

- 8 min à 94 °C pour activer l'enzyme (la TaqGold est une enzyme dite « hot start » dont l'activité enzymatique est inhibée par la liaison à un anticorps. La

liaison est rompue à une température de 94°C permettant à l'enzyme d'être active).

- Puis 20 cycles : 30 secondes à 94°C pour dénaturer l'ADN, 30 secondes à 61°C pour l'hybridation des amorces (avec une diminution de 0,5°C par cycle) et 1 minute à 72°C pour la réaction d'élongation (la durée de cette phase est conditionnée par la longueur du fragment à amplifier).
- Puis 15 cycles de 30 secondes à 94°C, 30 secondes à 51°C et 1 minute à 72°C.
- Pour finir 2 min à 72°C.

Nous avons vérifié le bon déroulement de notre réaction de PCR et la pureté des produits obtenus en faisant migrer par électrophorèse un mélange de 3 µL de notre produit de PCR avec 3 µL de bleu de charge sur un gel d'agarose contenant du bromure d'éthidium qui est un intercalant de l'ADN et qui fluoresce sous UV. Le gel a donc été révélé sous lumière UV. Nous avons vérifié que la taille des produits de migration correspondait à celle attendue pour chaque couple d'amorces.

#### f. Purification des produits de PCR

- Matériels

Afin d'éliminer le surplus d'amorce, une purification de nos produits de PCR a été réalisée en ajoutant 1µL d'un mélange d'exonucléase et de phosphatase (ExoSap) avec 2,5µL de produit de PCR.

- Méthodes

Le mélange « produits de PCR et Exosap » est passé au Thermocycler pour 15 minutes à 37°C puis 15 minutes à 80°C. L'ExoSap contient une exonucléase (« Exo ») qui va dégrader les amorces et une phosphatase (« sap ») qui va déphosphoryler les produits de PCR et les oligonucléotides afin d'éviter toutes réactions de polymérisation à partir des oligonucléotides restant ou des produits de PCR.

#### g. Séquençage

- Matériels

La réaction de séquençage nécessite de mélanger :

- 1,5µL de BygDye
- 1X de tampon,
- 0,3µM d'une amorce,
- 1µL de notre produit de PCR purifié.

- Méthodes

Le BygDye est un mélange de dNTP, de ddNTP (didésoxyNucléotide Triphosphate) fluorescents permettant la lecture de la séquence par le séquenceur, d'une Taq polymérase pour réaliser la réaction de polymérisation, d'un tampon et de MgCl<sub>2</sub>.

#### h. Purification des produits de séquençage

- Matériels

Afin de réaliser la purification de nos produits de séquençage, nous avons utilisé des colonnes d'exclusion (sephadex) en format plaque 96.

- Méthodes

Les produits de séquençage ont été purifiés, afin d'éliminer les amorces et les oligonucléotides non incorporées. Nous avons préparé les plaques des colonnes d'exclusion avec du sephadex et 300µL d'eau MilliQ. Après 2h de repos, nous avons éliminé l'excédent d'eau par centrifugation 5 minutes à 850g. Les produits de séquençage ont alors été déposés sur les plaques de sephadex et purifiés par centrifugation 5 minutes à 850g.

i. Dépôt des produits de PCR sur séquenceur

- Matériels

Le séquençage a été réalisé sur un séquenceur ABI3130xl (Life technologies) après ajout de formamide.

- Méthodes

Nous avons ajouté de la formamide puis chauffé les produits de séquençage purifiés pendant 5 minutes à 95°C, pour les dénaturer, avant de les déposer et de les faire migrer sur un séquenceur ABI3130xl.

## C. Résultats

### 1. *Concernant la base de données de certificats de dépistage des MHOC*

La très grande majorité des chiens a été examinée par le Dr Chaudieu.

Notre base de données comprend 2037 certificats oculaires concernant un total de 1358 Border Collie (760 femelles et 598 mâles). Concernant le nombre d'examens réalisé par chiens :

- 990 chiens ont été examinés une seule fois ;
- 211 chiens ont été examinés deux fois ;
- 81 chiens ont été examinés trois fois ;
- 40 chiens ont été examinés quatre fois ;
- 19 chiens ont été examinés cinq fois ;
- 17 chiens ont été examinés plus de cinq fois, un chien ayant même été examiné dix fois.

Parmi ces chiens, 300 ont été diagnostiqués indemnes après l'âge de 5 ans (103 mâles et 197 femelles).

Au total, 113 chiens ont été diagnostiqués atteints et se répartissent en :

- 98 mâles et 15 femelles

- 54 chiens atteints bilatéraux (52 mâles et 2 femelles)
- 59 chiens atteints unilatéraux (46 mâles et 13 femelles)

La prévalence de l'APR chez le Border Collie, sans tenir compte du sexe ou du type d'atteinte est de **8,32%**. Elle est de **1,97%** chez les femelles et de **16,39%** chez les mâles.

En moyenne, l'âge au premier dépistage est de 4 ans ; il est de 4,31 ans si l'on ne considère que les animaux atteints bilatéraux et 3,82 ans si l'on ne considère que les animaux atteints unilatéralement.

Parmi les 16 chiens mâles atteints unilatéraux qui ont eu un suivi, dans les années suivant le diagnostic initial, 10 sont restés atteints unilatéraux, avec une évolution des lésions pour 7 d'entre eux et 6 ont présenté une atteinte de l'œil controlatéral. Aucune des femelles atteintes unilatéralement n'a été réexaminée après le diagnostic initial.

## **2. Etude de l'arbre généalogique**

La mise à jour de l'arbre généalogique nous a permis de trouver des ancêtres communs pour certains individus atteints, dont nous ne connaissions pas le lien de parenté. Elle nous a également permis de vérifier les statuts des chiens par rapport à l'APR, certains d'entre eux ayant été diagnostiqués sains lors de la construction du précédent arbre généalogique et ayant depuis été diagnostiqués atteints. Ce travail a permis de réaliser un arbre généalogique de plus de 700 chiens, comportant plus de 50 chiens atteints.

Sur notre arbre généalogique, nous observons un nombre de mâles atteints largement supérieur à celui des femelles atteintes. Une partie de cet arbre est représentée sur la figure 21.

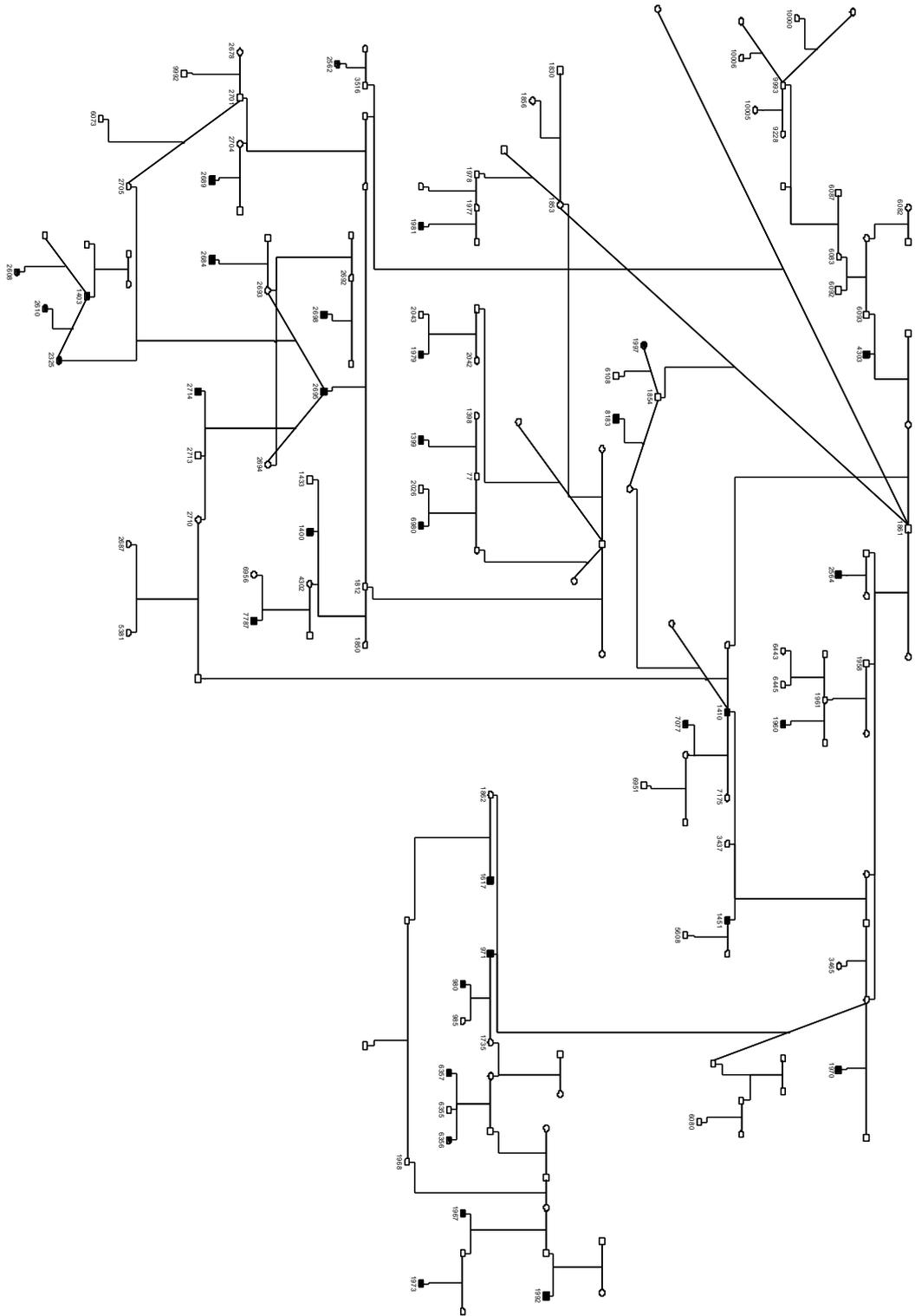


Figure 21 : Une portion de la généalogie (les carrés représentent les mâles, les ronds les femelles, les animaux malades sont représentés par un icône plein)

Intéressons nous désormais à une petite partie de ce pédigrée représenté sur la figure 22.

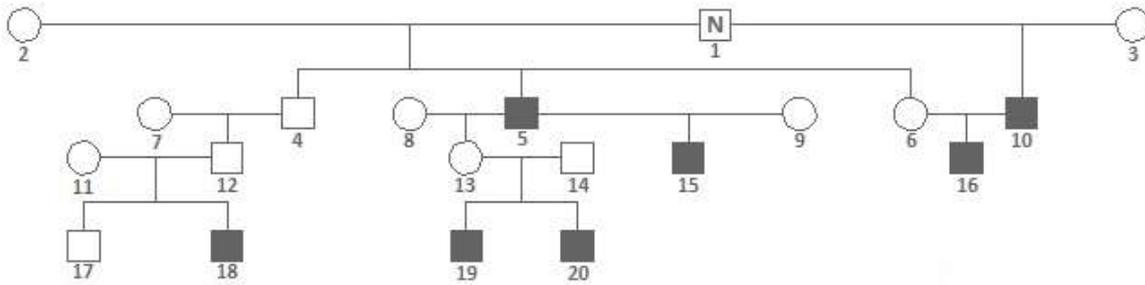


Figure 22 : Etude d'une portion de notre arbre généalogique (pour les schémas à venir les individus atteints sont représentés en icône plein, les individus porteurs ont un point au centre de leur icône)

On observe que sur les 20 individus représentés dans cette portion, les sept individus atteints sont des mâles. Nous avons testé les différents modes de transmission sur cette portion.

- Modèle de transmission holandrique

Dans un modèle de transmission liée au chromosome Y, tous les mâles atteints ont, sur leur chromosome Y, l'allèle muté responsable de la maladie. Chaque mâle a hérité son chromosome Y de son père. Ainsi, tout mâle atteint a forcément son père atteint. Dans notre cas, les mâles atteints 5 et 10 sont issus d'un mâle sain, diagnostiqué indemne cliniquement à l'âge de 7 ans (figure 23). Ce mode de transmission peut donc être écarté.

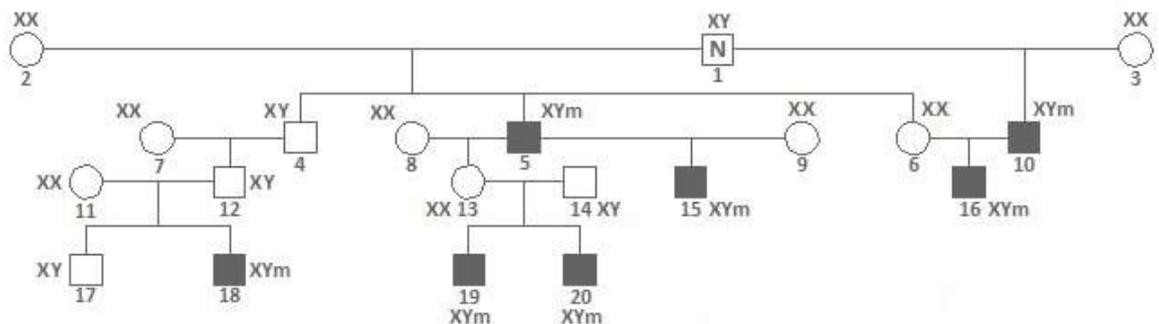


Figure 23 : Génotype dans le cas d'une transmission liée au chromosome Y

- Modèle de transmission autosomique dominant

Dans un modèle de transmission autosomique dominant, tout individu atteint à l'un au moins de ses parents qui est atteint. Sur la figure 24, nous observons, par exemple que le mâle 10 est issu de deux parents qui ont été diagnostiqués cliniquement indemnes après l'âge de 7 ans. Ce mode de transmission peut donc lui aussi être exclu.

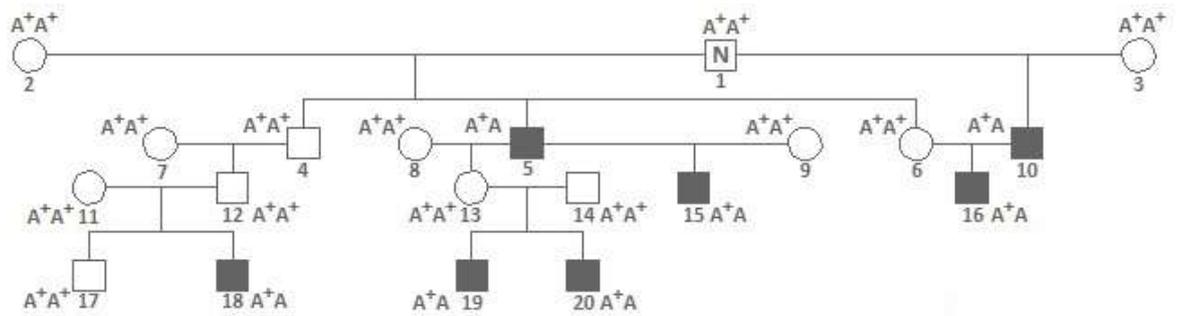


Figure 24 : Génotype dans le cas d'une transmission autosomique dominante

- Modèle de transmission autosomique récessif

Dans un modèle de transmission autosomique récessif, un individu atteint a hérité d'un allèle muté de chacun de ses parents. Ainsi les parents d'un individu atteint, sont soit porteurs de la maladie, soit atteints. Les génotypes des différents individus de notre portion d'arbre généalogique sont représentés sur la figure 25. Ce mode de transmission ne peut être écarté dans notre cas.

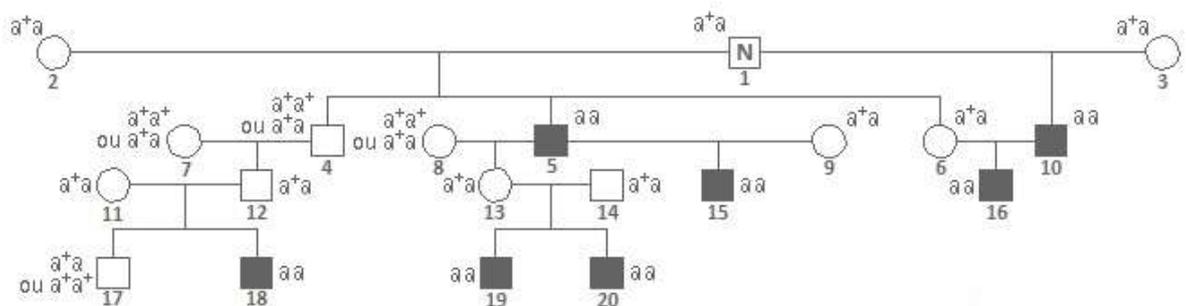


Figure 25: Génotype pour un mode de transmission autosomique récessif

- Modèle de transmission liée au sexe de manière absolu

Dans un modèle de transmission liée au chromosome X, les mâles atteints ont hérité du chromosome X porteur de l'allèle muté de leur mère. Les femelles issues d'un mâle atteint seront porteuses du chromosome X porteur de la mutation génétique de leur père. Sur la figure 24, nous observons que le mâle atteint 5 a hérité du chromosome X porteur de la mutation génétique (représenté en rouge) de sa mère (femelle porteuse 2). Nous pouvons observer que la femelle 6 a un fils atteint (mâle 16), elle est donc porteuse de la mutation. Son père (mâle 1) étant sain, la femelle 6 a forcément hérité la mutation (représentée en rouge) de sa mère (femelle 2). Le fait que le mâle 15 soit atteint n'est pas en lien avec le fait que son père (mâle 5) soit atteint, car il a reçu son chromosome X (représenté en vert) muté de sa mère (femelle porteuse 9). Sur l'ensemble de cette portion de l'arbre généalogique (Figure 26), nous pouvons retrouver les liens entre mère porteuse et fils atteint, représentés chacun par une couleur différente.

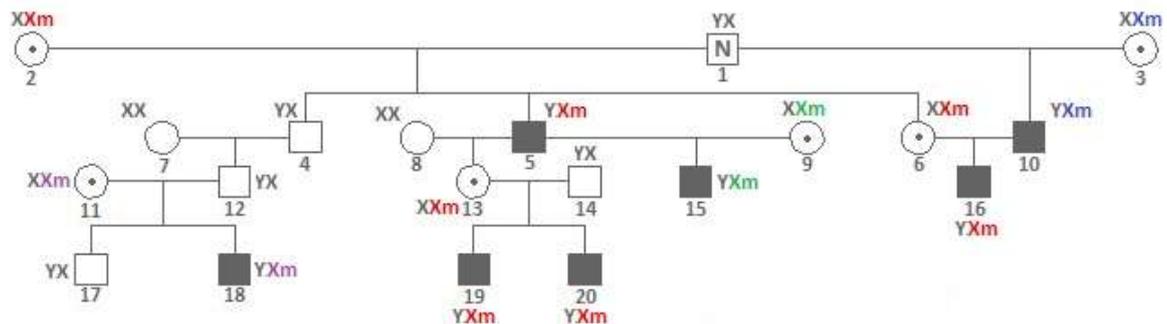


Figure 26 : Génotype lors d'un mode de transmission lié au chromosome X

Intéressons nous maintenant à deux familles que nous avons pu recruter lors d'une journée de dépistage des maladies oculaires organisée, par l'AFBC et le Dr Chaudieu, le 19 Novembre 2011 à Charnizay. Sur les 27 Border Collie (13 mâles et 14 femelles) examinés ce jour là, trois mâles ont été diagnostiqués atteints. Après avoir discuté avec les propriétaires, nous avons pu obtenir des informations complémentaires concernant deux familles de Border Collie. Le mâle atteint de la famille I (figure 27) présentait une hyperréflexion diffuse hétérogène du tapis de l'œil droit ainsi qu'une lésion focale hyperréfléchissante du tapis de l'œil gauche. Lors de cette même journée, nous avons également pu examiner et récupérer des échantillons sanguins du frère, de la sœur et de la mère de ce chien, ces trois derniers ayant été diagnostiqués indemnes. Ces quatre chiens ont été réexaminés un an plus tard lors d'une nouvelle journée de dépistage organisé au même endroit afin de détecter d'éventuels signes

d'APR (notamment pour son frère de portée) ou l'évolution des lésions pour le mâle atteint. Les propriétaires de ce mâle nous ont aussi indiqué qu'il venait d'avoir une portée (3 mâles et 3 femelles) et nous ont mis en relation avec les propriétaires de chacun des chiots. Cela nous a permis d'obtenir un échantillon sanguin de chacun d'entre eux et de sensibiliser, leurs propriétaires, à l'importance de faire régulièrement examiner leur chien par un vétérinaire ophtalmologiste.

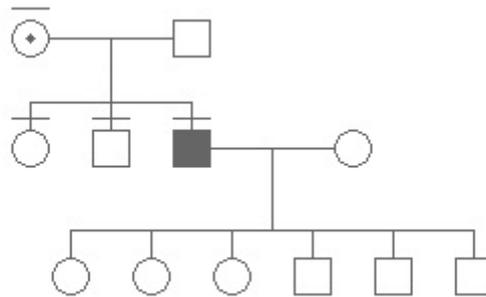


Figure 27 : Pédigrée de la famille I (les chiens ayant subi un examen ophtalmologique ont un trait au-dessus de leur icône)

Le deuxième mâle atteint présentait une lésion focale hyperréfléchissante périphérique du tapis de l'œil droit. Lors de cette même journée, nous avons également examiné la sœur de portée de ce chien, ses deux parents, ainsi qu'un mâle issu du même père mais d'une mère différente. Tous les membres de cette famille ont été diagnostiqués indemnes (figure 28). L'année suivante nous avons pu revoir ce chien, ses lésions avaient évolué sur l'œil droit mais il ne présentait toujours pas de lésion sur l'œil gauche. Ce qui est très intéressant, c'est qu'une portée consanguine est née en 2011, issu de l'accouplement du chien atteint avec sa propre mère (qui est donc porteuse). Parmi les chiots issus de cette portée nous devrions avoir statistiquement 25% de mâles sains, 25% de mâles atteints, 25% de femelles porteuses et 25% de femelles atteintes. Or dans un mode de transmission lié au chromosome X il est très rare d'avoir des femelles atteintes (sauf dans le cas d'accouplements consanguins). Les propriétaires de la mère de cette portée ont eu la gentillesse de nous donner les coordonnées des propriétaires des chiots afin que nous puissions les contacter (sans évoquer le statut face à l'APR de leurs parents). Nous avons ainsi pu obtenir des échantillons sanguins de certains des chiots et nous espérons voir certains d'entre eux lors d'une journée de dépistage prévue en novembre 2013.

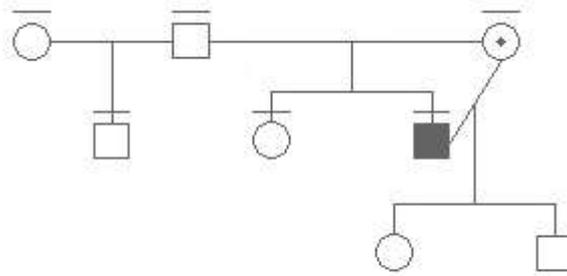


Figure 28 : Pédigrée de la famille II

### 3. Etude génétiques d'association

Les données de génotypage de 74 chiens (38 indemnes et 36 atteints) obtenues par hybridations sur puces 170 000 SNP ont été étudiées à l'aide du logiciel Plink qui réalise une étude d'association par un test de  $\chi^2$ . Le but de ces études d'association est de calculer la probabilité d'association de chaque marqueur SNP avec la maladie. Les 170 000 SNP étant répartis sur l'ensemble des chromosomes canins (les 38 autosomes et le chromosome X), ces études permettent de tester toutes les régions du génome.

Le tableau II répertorie la localisation des SNP avec les meilleures valeurs statistique (p-value) classées par ordre croissant. Le SNP avec la meilleure valeur statistique se situe sur le chromosome 15 avec une p-value de 1.324e-05.

Tableau II : Résultats de l'étude génétique d'association sur 74 chiens

<b>Chromosome</b>	<b>SNP</b>	<b>p-value</b>
15	BICF2S23526024	1.324e-05
31	BICF2G630743275	2.275e-05
15	BICF2P346997	4.272e-05
38	BICF2G63066077	5.405e-05
16	BICF2S23210052	5.503e-05
1	BICF2G630715029	8.012e-05
4	BICF2P1190513	8.824e-05
4	BICF2P916654	8.824e-05
4	BICF2P960029	8.824e-05
4	TIGRP2P64652	8.824e-05
4	BICF2P882512	8.824e-05
4	BICF2P1007121	8.824e-05
19	BICF2S22956811	0.0001201
4	BICF2P235645	0.0001296
4	TIGRP2P64420	0.0001296
15	BICF2G630436105	0.0001577
33	BICF2G630244326	0.0001591
33	BICF2G630244320	0.0001591
11	BICF2P171344	0.0001591
33	BICF2G630244334	0.0001591
33	BICF2G630244352	0.0001591
25	BICF2G630190200	0.0001877
4	TIGRP2P64810	0.0002045
15	BICF2P59974	0.0002088
17	BICF2P707308	0.0002088
17	BICF2P948819	0.0002088
15	BICF2P1374317	0.0002088
13	BICF2P594439	0.0002413
27	BICF2P522247	0.0002455

La représentation de la localisation de ces SNP sur les chromosomes canins, obtenue sur le site UCSC, est présentée en figure 29.

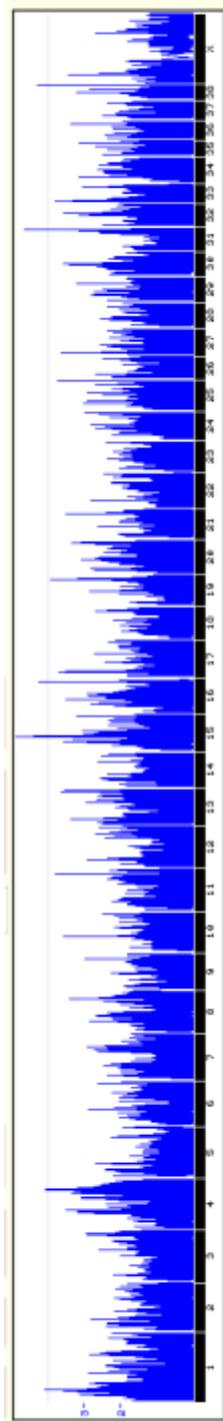


Figure 29 : Résultats de l'étude d'association incluant 74 chiens. Les chromosomes sont représentés en abscisse et les valeurs de p-value (en  $-\log$ ) en ordonnées.

Chaque point représente un marqueur, chaque ensemble de marqueurs représente un chromosome. Bien qu'il y ait beaucoup de bruit de fond, nous pouvons observer que plusieurs pics d'intérêt ressortent avec plusieurs SNP au niveau des chromosomes 1, 4, 15,16, 31 et 38.

Nous avons décidé d'étudier le locus du CFA15 car deux SNPs ressortent à ce niveau lors de notre analyse, le locus du CFA31 car ce même locus est également ressorti lors d'une autre analyse d'association menée précédemment au laboratoire, et le locus du CFA4 car plusieurs SNPs ressortent à son niveau. Nous n'avons pas étudié les locus des CFA1, 16 et 38 car chacun d'entre eux ne possède qu'un seul SNP isolé qui peut correspondre à un faux-positif, ils pourront cependant être étudiés ultérieurement pour confirmer ou non leur association avec la maladie. Ces loci ont été étudiés afin de voir si des gènes, contenus dans ces régions, pouvaient être en lien avec l'APR chez le Border Collie (gènes modulateurs). Nous voulions ainsi avoir une idée de l'implication de régions non liées au chromosome X, tout en sachant que les recherches d'un gène majeur sur le chromosome X devraient être poursuivies.

#### **4. Recherche et étude d'un gène candidat**

##### **a. Recherche de gènes candidats dans les régions autosomales**

Pour chacun des gènes situés dans les régions les plus statistiquement significatives lors de l'analyse d'association (loci des CFA15, 31 et 4), nous avons recherché si des transcrits étaient identifiés au niveau de la rétine et nous avons recherché leur rôle physiologique. Au total sur les 24 gènes localisés dans les régions les plus significatives, 5 possèdent au moins une séquence d'ARN transcrit exprimé dans la rétine (EST). Afin de choisir les meilleurs gènes candidats, nous nous sommes basés sur les résultats statistiques obtenus lors de l'étude d'association, les données de la littérature concernant ces gènes et leur rôle potentiel dans la rétine. Les caractéristiques de ces gènes sont résumées dans le tableau III.

Tableau III : Caractéristiques des gènes dans les régions les plus statistiquement significatives  
(loci des CFA15, 31 et 4)

Localisation	Gène	Nom	Nombre d'ESTs dans la rétine	Rôle physiologique
<b>chromosome 15</b>  <b>entre 25,5</b>  <b>et 27,5 Mb</b>	MYF5 et MYF6	Myogenic Factor 5 et 6	0	rôle dans la différenciation musculaire
	LIN7A, LIN7B et LIN7C	Lin 7 homologue A, B et C	0	rôle dans l'établissement et le maintien de la distribution asymétrique des canaux et des récepteurs à la membrane plasmique des cellules polarisées
	PPFIA1, PPFIA2 et PPFIA4	Protéine Tyrosine Phosphatase Receptor type F polypeptide Interacting Protein A1, A2 et A4	0	rôle dans la distribution et dans la régulation de l'interaction avec le milieu extra-cellulaire et l'association avec des substrats des récepteurs à la tyrosine phosphatase
	CCDC59	Coiled Coil Domain Containing 59	0	composant des complexes de transcription de l'agent tensio-actif pulmonaire associée aux protéines B
<b>chromosome 31</b>  <b>entre 38,3</b>  <b>et 39,3 Mb</b>	RIPK4	Receptor Interacting Serine Threonine Kinase 4	0	rôle dans le développement épithélial stratifié
	PRDM15	PR Domain Containing 15	0	peut être impliqué dans la régulation transcriptionnelle
	ST8SIA2	ST8 Alpha-N-Acetyl-Neuramide Alpha 2,8-Sialyltransférase 2	0	catalyse le transfert de l'acide sialique par alpha-2,8
	TMPRSS3	Transmembran Protease serine 3	0	rôle dans l'audition : nécessaire à la survie des cellules ciliées de la cochlée
	<b>ABCG1</b>	<b>ATP Binding Cassette sub family G 1</b>	<b>5 ESTs/209</b>	<b>impliquée dans l'homéostasie lipidique des macrophages, précurseurs des transporteurs des pigments visuels de la rétine</b>
	TFF1 et TFF2	Trefoil Factor 1 et 2	0	stabilisateur du gel muqueux de la muqueuse gastro-intestinale, inhibiteur de la croissance des cristaux d'oxalate de calcium dans les urines
	RSPH1	Radial Spoke Head 1 Homolog	0	rôle dans la méiose masculine
	SLC37A1	Solute Carrier Family 37 (Glycerol 3 Phosphate Transporter)	0	rôle dans le transport du glycérol
PDE9A	Phosphodiesterase 9A	2 ESTs/169	hydrolyse le GMPc, régulateur clé de nombreux processus physiologiques	
<b>chromosome 4</b>  <b>entre 72</b>  <b>et 73 Mb</b>	DAB2	Disabled Homolog 2, Mitogen-Responsive Phosphoprotein	5 ESTs/1008	impliqué dans des phénomènes d'endocytose et d'exocytose, rôle dans le positionnement cellulaire et la formation de l'endoderme viscéral
	C9	Complement component 9	0	rôle dans la réponse immunitaire innée et adaptative
	FYB	FYN Ninding Protein	1 EST/499	rôle dans la signalisation des cellules T
	RICTOR	RPTOR Independent Companion Of MTOR Complex 2	0	régule la croissance et la survie cellulaire, rôle dans la croissance et le développement embryonnaire
	RPL23A	Ribosomal Protein L23a	30 ESTs/ 4272	composant des ribosomes, peut être impliquée dans l'inhibition de la croissance chez la levure

L'ensemble des gènes situés sur le chromosome 15 (meilleure valeur statistique) ne possédant pas d'EST au niveau de la rétine, nous nous sommes intéressés aux gènes situés sur le chromosome 31. Nous avons choisi d'étudier en premier le gène ABCG1 qui se situe dans une région du chromosome 31 avec une p-value de 2.275e-05. Ce gène est un précurseur des

transporteurs des pigments visuels qui s'exprime dans la rétine et lors du développement embryonnaire [37]. De plus, il possède des ESTs au niveau de la rétine prouvant, par un autre moyen, son expression dans la rétine.

## b. Etude du gène ABCG1

- Données connues sur le gène ABCG1

Le gène ABCG1 se situe, de 38900260 pb à 38946045 pb sur le chromosome 31, en utilisant la version d'assemblage CanFam2. Il s'étend donc sur 45786 bp et possède 15 exons. La séquence d'ARN messager est composée de 2185 nucléotides pour une protéine de 660 acides aminés. Le graphique suivant (figure 30) représente la position des amorces utilisées pour le séquençage de ses exons, par rapport à la séquence du gène ABCG1.

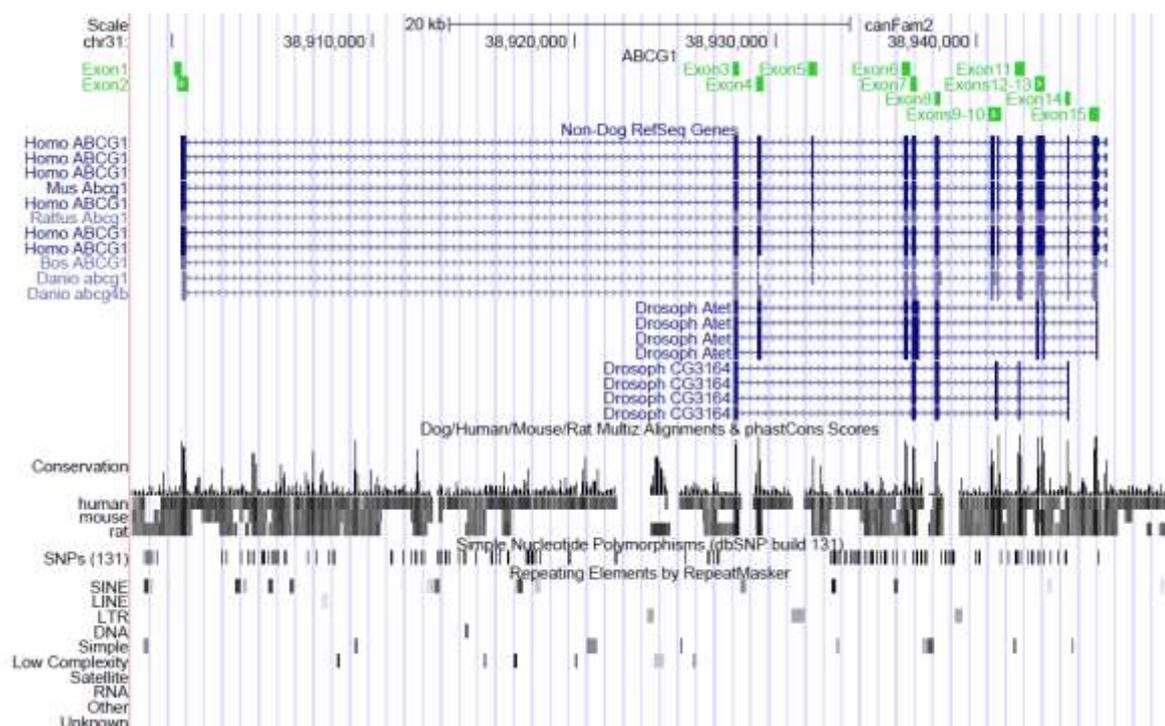


Figure 30 : Schéma du gène ABCG1 et position des exons obtenus sur le site UCSC [139]. En vert, les produits d'amplification « virtuels » prédits suite au choix des amorces.

- Choix des amorces d'amplification

Nous avons déterminé 13 couples d'amorces pour les 15 exons du gène ABCG1, les exons 9 et 10 et les exons 12 et 13 étant regroupés dans un même produit d'amplification. Les

caractéristiques de chaque couple d'amorces sont regroupées dans le tableau IV et les positions des produits obtenus sont reportées sur la figure 31. Au total, nous avons séquencé tous les exons ainsi que les jonctions exons/introns.

Tableau IV : Caractéristiques des amorces pour le gène ABCG1

Exon	Sens de l'amorce	Séquences des amorces	Nombre de nucléotides	% GC	Tm (en °C)	Taille du produit de PCR (en pb)
1	F	cagtggccagtgttgactc	20	55	59,3	294
	R	ggaggaagcaccaagaaagc	20	55	61,3	
2	F	accctcagtaaggcaaca	20	50	59,6	493
	R	tacgaaaactccccgtcctc	20	55	60,4	
3	F	tggctgttggtgtatcatca	21	43	60	300
	R	ggtggcctcactttctctga	20	55	60,4	
4	F	aatgggttcatctgggaaga	20	45	59,3	398
	R	ctgggagttgtgtcgat	20	45	57,6	
5	F	gaagcctcggagataacag	20	55	58,9	328
	R	gaacactagtgacaaacca	20	45	53,4	
6	F	cctcatatgcaatcccatcc	20	50	60,1	334
	R	tataagaaccctggcggaga	20	50	59,7	
7	F	tgtgctttgaatgtgggcta	20	45	60,3	232
	R	cctgggatttgggtcactt	20	50	59,8	
8	F	gattgatggctcctgttgct	20	50	60,2	242
	R	cactgagcgtggaaaagagc	20	55	61,1	
9 et 10	F	aggctgtgtgtcgcgaaaac	20	50	61,3	572
	R	tcccacagcttcccttgcca	20	55	66,3	
11	F	aggagaaatcggggaccaat	20	50	61,9	438
	R	ttagcttgacatggaatgc	20	55	58,7	
12 et 13	F	aggtgtcctgggcaaatatc	20	50	58,9	477
	R	cactcggtagagaaggaca	20	55	57,9	
14	F	cagacatgtgggatacagcc	20	55	59	272
	R	cctccctcctgtccacata	20	55	59,9	
15	F	tgagaggctgttgggagtct	20	55	60	462
	R	tccctgtgctctacaagtg	20	55	58,9	

F (Forward) et R (Reverse) correspondent au sens de lecture de l'ADN : de 5' vers 3' pour F, de 3' vers 5' pour R.

Tm est la température d'hybridation de l'amorce sur le brin antisens de l'ADN.

- Résultat du séquençage

Le séquençage a été effectué sur 8 chiens apparentés (voir figure 19 page 82).

Au total, 104 réactions de PCR et de séquençages pour les 15 exons et les 8 chiens ont été réalisées. La plupart de ces réactions ont été faites deux fois pour s'assurer de la bonne qualité des séquences et de la réplication des résultats. Certaines séquences n'ont pas fonctionné même après avoir été refaites mais le manque de ces séquences n'a pas gêné notre interprétation. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau V.

Tableau V : Résultats du séquençage du gène ABCG1

Exon	1	2	4	5	6	6	7	8	8	9-10	12-13	12-13	14
Position	-5	+35	+47	+65	-72	693	828	948	+9	-17	+21	-22	+9
Type de mutation	intron	intron	intron	intron	intron	exon	exon	exon	intron	intron	intron	intron	intron
Séquence de référence	CC	CC	CC	CC	GG	CC	TT	GG	AA	AA	AA	TT	TT
A (femelle indemne)	<b>TC</b>	CC	CC	CC	<b>GC</b>	<b>CT</b>	<b>TC</b>	<b>GA</b>	<b>AC</b>	<b>AG</b>	<b>AG</b>	<b>TC</b>	X
B (femelle indemne)	CC	CC	CC	CC	GG	CC	TT	GG	AA	AA	AA	TT	<b>TC</b>
C (femelle indemne)	CC	CC	X	CC	GG	CC	TT	GG	AA	AA	AA	TT	<b>CC</b>
D (mâle indemne)	CC	X	X	CC	<b>GC</b>	<b>CT</b>	<b>TC</b>	GG	<b>AC</b>	<b>AG</b>	<b>AG</b>	<b>TC</b>	<b>TC</b>
E (mâle atteint bilatéral)	CC	CC	<b>CT</b>	<b>CT</b>	GG	CC	TT	GG	AA	AA	AA	TT	<b>TC</b>
F (mâle atteint bilatéral)	CC	<b>CT</b>	CC	CC	<b>GC</b>	<b>CT</b>	<b>TC</b>	GG	<b>AC</b>	X	<b>AG</b>	<b>TC</b>	TT
G (mâle atteint unilatéral)	CC	<b>CT</b>	X	CC	<b>GC</b>	<b>CT</b>	<b>TC</b>	X	X	X	X	X	TT
H (mâle statut inconnu)	CC	CC	CC	CC	GG	CC	TT	GG	AA	AA	AA	TT	<b>TC</b>

Dans ce tableau, les modifications par rapport à la séquence de référence apparaissent en gras, les séquences n'ayant pas fonctionné sont notées par un X, la position d'une variation intronique est indiquée en fonction de sa position par rapport au gène (- si il est avant le gène, + si il est après le gène) et une variation exonique est positionnée par rapport au nucléotide modifié dans l'exon.

Les séquences des exons 3, 11 et 15 sont identiques à la séquence de référence du génome canin, donc aucun polymorphisme n'est présent dans ces exons.

Sur les 13 variations observées lors de ce séquençage, 10 sont des variations introniques. Elles se situent dans les régions d'épissage exon/intron et pourraient donc être à l'origine de modification de la protéine en altérant l'épissage.

Les trois mutations exoniques observées sont des mutations silencieuses, c'est-à-dire qu'elles ne changent pas l'acide aminé dans la séquence protéique. Toutefois, ces mutations pourraient avoir un rôle dans l'épissage et sur la conformation de l'ARNm, mais ces effets restent extrêmement difficiles à démontrer.

Au final, aucune des variations que nous avons observées n'est retrouvée uniquement chez les chiens atteints. Nous pouvons donc dire qu'aucune des variations observées sur nos différents chiens, pour les 15 exons du gène ABCG1, n'est liée à l'APR chez le Border Collie.

## **D. Discussion**

### ***1. Concernant la base de données des certificats de dépistage des MHOC***

La majorité des examens oculaires à notre disposition a été réalisée par le Dr Chaudieu. Ceci nous a permis d'avoir un diagnostic homogène et de pouvoir considérer que tous les chiens diagnostiqués atteints présentaient bien des lésions d'APR.

Les renseignements fournis par l'étude des 2037 certificats oculaires, réalisés chez 1358 Border Collie, nous ont permis de montrer que le nombre de mâles atteints est très largement supérieur à celui des femelles atteintes. En effet, près de 87% des animaux atteints sont des mâles. Nous avons calculé la prévalence qui, fin 2012, s'élevait à 8,32% si l'on ne fait pas de distinction de sexe. Si l'on ne considère qu'un seul sexe, on remarque que la prévalence est plus élevée chez les mâles (16,39%) par rapport aux femelles (1,97%). Il est intéressant de suivre l'évolution de ce taux au cours des dernières années, en effet celui-ci était de 20% en 2001 et de 12% en 2008 (données personnelles du Dr Chaudieu). La baisse de ce taux de prévalence au fil des années montre bien que les nombreuses actions de sensibilisation menées, et notamment l'explication aux éleveurs du mode de transmission de

l'APR, ont permis aux éleveurs d'être plus attentifs et d'adapter les accouplements dans leur élevage.

L'âge moyen au moment du dépistage clinique étant d'environ 4 ans, il serait important pour les éleveurs d'avoir à disposition un test de dépistage plus précoce permettant un diagnostic avant que l'animal n'ait déjà reproduit et transmis l'allèle délétère à sa descendance.

L'étude de l'évolution de la maladie à partir des certificats oculaires est rendue difficile par le fait que de nombreux chiens atteints ne sont pas réexaminés après avoir été diagnostiqués. En effet, sur les 113 chiens diagnostiqués 36 atteints bilatéraux et 43 atteints unilatéraux (soit 79 chiens) n'ont pas été réexaminés après ce diagnostic.

## **2. Etude généalogique**

La généalogie des Border Collie intégrant notre étude, a été mise à jour à partir du pédigrée de chaque chien (soit transmis par le propriétaire du chien, soit disponible sur le site internet de l'AFBC). Elle comporte plus de 700 Border Collie, dont plus de 50 chiens atteints. La plupart du temps, nous avons pu obtenir des informations remontant jusqu'aux arrières grands-parents. Ces informations sont très riches mais peuvent être parfois inexactes car il s'agit le plus souvent, pour les informations données par les propriétaires, d'informations papiers et non de parentés vérifiées par des tests ADN. Nous pouvons observer sur le pédigrée de nombreux liens de parenté ainsi que plusieurs étalons ayant eu une nombreuse descendance. Cette importante consanguinité entre ces chiens de travail explique le chiffre important de près de 10% de chiens atteints.

Bien que l'étude du pédigrée ne nous ait pas permis « formellement » de trancher entre une transmission autosomique récessive et une transmission liée au chromosome X, plusieurs éléments rendent l'hypothèse de transmission autosomique récessive très peu probable. Le taux de femelles atteintes (presque 2%) est élevé comparé à l'espèce humaine chez qui les femmes atteintes sont rarissimes. Mais ce taux s'explique tout à fait par la consanguinité importante du pédigrée et donc par le nombre important de femelles porteuses (ayant reçu un chromosome X porteur de l'allèle muté de leur père). Les études précédemment menées par Chaudieu [24][112] avaient déjà montré que le mode de

transmission de l'APR chez le Border Collie était lié au chromosome X. Ce mode de transmission de l'APR est déjà connu chez le chien dans les races Samoyède et Husky sibérien [1][118][121], et aussi pour les rétinites pigmentaires chez l'Homme [27][48][55][136].

Le suivi clinique des membres des familles de deux des mâles diagnostiqués atteints lors de la journée de dépistage du 19 Novembre 2011 est très important afin de détecter notamment si leurs frères de portée sont eux aussi atteints (une chance sur deux car leur mère est forcément porteuse de la maladie). Le suivi ophtalmologique régulier des chiots issus de portées consanguines, comme ce fut le cas, entre une mère porteuse et son fils atteint, est le point sur lequel nous essayons d'insister le plus, lors de la communication avec les propriétaires de ces chiots.

### ***3. Etude génétique d'association et choix d'un gène candidat***

Lors de l'étude génétique d'association sur tout le génome, nous avons obtenu plusieurs loci, contenant des marqueurs SNP ayant des valeurs statistiques significatives, suggérant une association entre ces loci et la maladie. Lorsque l'on analyse le contenu en gènes de ces loci, on retrouve des gènes candidats possédant des ESTs au niveau de la rétine et/ou ayant un rôle physiologique en rapport avec la rétine ou dans son développement embryonnaire. Le gène ABCG1 situé sur le chromosome 31 et précurseur des transporteurs des pigments visuels a été étudié.

Bien que les analyses du pédigrée et de la base de données nous orientent vers une transmission liée à l'X, le fait que nous ne retrouvions aucun SNP localisé sur ce chromosome, associé à la maladie lors des études d'association, est troublant. Les logiciels permettant de réaliser des analyses génétiques ont à l'origine été créés pour des études sur les autosomes, puis ont été améliorés afin de pouvoir intégrer les chromosomes sexuels, mais ces analyses restent encore bien difficiles et demanderaient de mieux appréhender ces données en envisageant des calculs statistiques plus adaptés. De plus, le séquençage du génome canin, n'ayant encore qu'une couverture partielle sur le chromosome X, il est possible qu'une association entre le chromosome X et la maladie n'ait pas été détectée, par manque de marqueurs dans la région ad hoc, ou par difficulté d'analyses statistiques sur ce chromosome unique.

#### **4. Séquençage du gène ABCG1**

Le séquençage du gène ABCG1 chez quatre individus indemnes, trois individus atteints et un individu au statut inconnu, ne nous a pas permis d'identifier un polymorphisme ségrégeant avec la maladie. En effet, nous n'avons obtenu aucun variant nucléotidique présent uniquement chez les individus atteints et non retrouvé chez les individus sains, marquant une mutation causale ou majeure dans la physiopathologie de la maladie. De même, nous n'avons pas retrouvé de variant identique chez les individus atteints et variable chez les individus sains, spécifique d'un marqueur proche de la mutation causale.

Bien que la piste des gènes autosomiques, impliqués dans cette APR, soit intéressante, nous n'avons à ce jour pas trouvé de variations nucléotidiques distinguant le groupe des atteints du groupe des chiens sains. Bien sûr, nous ne pouvons pas exclure des altérations introniques, non recherchées dans cette analyse.

#### **5. Quels conseils donner à l'éleveur ?**

Tant que les éleveurs de Border Collie n'auront pas à leur disposition un test génétique leur permettant de connaître dès le plus jeune âge, et avant la mise à la reproduction, le statut de leur animal vis-à-vis de l'atrophie progressive de la rétine, il est important de leur apporter quelques conseils afin de limiter la transmission de cette maladie.

Se basant sur une transmission liée au chromosome X, il faut conseiller aux propriétaires de ne pas faire reproduire un mâle diagnostiqué atteint. En effet, celui-ci transmettra son chromosome X porteur de l'allèle muté à l'ensemble de ses filles qui seront donc toutes porteuses de la mutation. Si les qualités morphologiques ou de travail du mâle atteint sont telles que ses propriétaires souhaitent l'utiliser pour la reproduction, il faudra veiller à le marier uniquement à des femelles n'ayant pas d'individus atteints dans leurs origines, ni dans leur descendants. De plus, seuls ses fils pourront être gardés pour la reproduction.

Lors de l'identification d'un mâle atteint, il faut conseiller de ne plus faire reproduire sa mère, celle-ci étant forcément porteuse de l'allèle muté et pouvant produire statistiquement 50% de mâles atteints dans sa descendance. Dans le cas, plus rare, de l'identification d'une

femelle atteinte, il faut conseiller de ne plus la faire reproduire, car elle produira statistiquement 100% de femelles porteuses et 100% de mâles atteints dans sa descendance. Il faudra également faire attention à l'utilisation en reproduction de ses frères et sœurs car le père d'une femelle atteinte est atteint et sa mère est porteuse.

Il faut également conseiller de prévenir les propriétaires des autres chiens de la fratrie lors du diagnostic d'un individu atteint, afin qu'ils soient examinés régulièrement par un vétérinaire ophtalmologiste.

Si l'on s'intéresse à la grille de cotation des Border Collie (se reporter à la figure 9 page 46), nous pouvons remarquer que les chiens côté 5 points sur 6, sont des reproducteurs qui n'ont pas eu besoin, pour atteindre ce niveau de cotation, de subir un examen de dépistage des MHOC. Ainsi, afin d'éviter que des chiens atteints puissent reproduire et atteindre un niveau de cotation élevée, il serait bien d'instaurer, dès la cotation 1 point, le dépistage systématique des MHOC.

#### ***6. Apport du modèle canin dans la recherche de gènes responsables de maladies humaines***

De nombreuses maladies canines sont homologues à des maladies humaines car elles présentent les mêmes symptômes cliniques.

La sélection canine fait que l'on peut considérer chaque race comme un isolat génétique. Chaque race de chiens est constituée d'une population très homogène ; la sélection et le maintien des traits qui lui sont propres ont souvent été à l'origine de la co-sélection de mutations délétères et de variants dans des gènes codant pour des traits d'intérêt. Les mutations ainsi co-sélectionnées peuvent être à l'origine de maladies héréditaires qui peuvent atteindre des incidences élevées dans certaines races du fait d'une consanguinité très présente dans les pratiques d'élevage [36].

Dans la recherche de modèles d'études pour les maladies humaines, le modèle canin a l'avantage de présenter des maladies héréditaires spontanées contrairement aux modèles murins où le plus souvent les maladies sont provoquées de façon artificielle. De plus, chaque maladie étant le plus souvent spécifique d'une race ou d'un petit nombre de races, l'identification des gènes responsables des maladies héréditaires est le plus souvent plus facile

chez le chien que chez l'homme. En effet, tous les chiens appartenant à une même race ont un fond génétique commun permettant de réduire le bruit de fond lié à la variabilité du génome de chaque individu. Il est aussi beaucoup plus facile de recruter un nombre important d'individus atteints et d'établir des liens de parenté chez le chien. D'autre part, le chien présente un suivi médical fréquent et régulier, nous permettant d'avoir un suivi précis de l'évolution d'une maladie [41][42][43][44].

Ainsi, l'identification des causes génétiques d'une maladie canine permet de cibler de nouveaux gènes candidats, ou de nouvelles voies métaboliques, à l'origine de maladies humaines. Le travail réalisé sur l'APR chez le Border Collie permettrait de trouver potentiellement un nouveau gène impliqué dans des rétinopathies pigmentaires humaines liées à l'X. A l'heure actuelle, chez l'homme, un seul gène a pu être identifié comme impliqué dans une RP liée au chromosome X – XLRP-, il s'agit du gène RPGR [27] et trois loci, RP2, RP24 et Xq28, dont les gènes ne sont justement pas encore identifiés [27][48][55][80][136]. Ainsi, le gène recherché dans la PRA du Border Collie pourrait venir compléter utilement cette liste et donc fournir un nouveau gène pour expliquer une partie des XLRP humaines.

Un exemple marquant de l'utilisation et du potentiel du modèle canin dans la recherche de gènes et la thérapie de rétinopathies humaines est celui de Briards atteints de Cécité nocturne congénitale stationnaire (cnsb), due à l'altération du gène RPE65, l'équivalent de l'Amaurose Congénitale de Leber. Comme le même gène est muté dans les deux espèces, des protocoles pour des essais de thérapie génique chez le Briard ont été mis en place par l'équipe de F. Rolling à l'INSERM à Nantes, en France et par l'équipe de G. Aguirre de l'Université de Pensylvanie, aux Etats-Unis [72][97]. Ces essais fructueux chez le chien ont été suivis par des essais de thérapie génique chez l'Homme, réalisés par plusieurs équipes internationales.

# Conclusion

L'APR chez le Border Collie entraîne une cécité à plus ou moins long terme. A l'heure actuelle, le seul moyen de diagnostic est l'examen oculaire qui ne permet qu'un diagnostic tardif. L'objectif de ce travail a été de chercher une mutation génétique en lien avec l'apparition de l'APR chez le Border Collie, afin de pouvoir connaître, avant la mise à la reproduction, le statut des reproducteurs et ainsi d'éviter de produire des animaux atteints.

La prévalence de cette maladie a été déterminée à partir de l'étude de 2037 certificats de dépistage des MHOC. Il est de 8,32% si l'on ne tient pas compte du sexe, 1,97% chez les femelles et atteint 16,39% chez les mâles.

Une étude génétique d'association a permis l'identification de loci autosomiques. L'analyse de ces loci a conduit à la sélection d'un gène candidat : ABCG1 qui est un précurseur des pigments visuels exprimé au niveau de la rétine. Son séquençage n'a pas permis de mettre en évidence de polymorphisme ségrégeant avec la maladie.

Les études menées jusqu'à présent, orientent très fortement vers une transmission liée au sexe de manière absolue. Face aux difficultés rencontrées depuis plusieurs années dans la recherche d'une mutation sur le chromosome X, l'étude de régions non liées à ce chromosome et pouvant comporter des gènes modulateurs est une piste à explorer. Toutefois, les recherches d'un gène majeur sur le chromosome X doivent être poursuivies.

Thèse de Mme Amandine Olivier

Le Professeur responsable  
VetAgro Sup campus vétérinaire

F. Grain

Le Directeur général  
VetAgro Sup

Le Président de la thèse

Vu et permis d'imprimer

Par délégation  
Pr F. Grain - DEVE

VetAgro Sup  
Campus Vétérinaire

Lyon, le 11 OCT 2019  
Pour le Président de l'Université  
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,  
Professeur F.N. GILLY





# Glossaire

Acrocentrique : qualifie un chromosome dont le centromère est proche d'une extrémité.

Allèle(s) : une (ou plusieurs) version(s) d'un même gène. Si l'individu porte le même allèle sur ses deux chromosomes homologues, il est dit homozygote. Si l'individu a deux allèles différents de ce gène, il est dit hétérozygote.

Atrophie : diminution du nombre ou du volume des éléments cellulaires constitutifs d'un tissu.

Autosome : tout chromosome à l'exception des chromosomes sexuels.

Cani-DNA : base de données contenant l'ADN de chiens de toutes races, atteints ou non de maladies génétiques ainsi que les informations cliniques et généalogiques correspondantes. Cette base a été développée et gérée par le laboratoire « génétique et développement » du CNRS de Rennes en collaboration avec le laboratoire Antagène et les écoles vétérinaires de Maison-Alfort et de Nantes.

Chromosome : structure filiforme composée d'ADN et de protéines. Les gènes sont disposés le long des chromosomes.

Dégénérescence : perte des qualités morphologiques et fonctionnelles de la structure atteinte.

Déséquilibre de liaison : association préférentielle entre deux allèles au sein d'une population.

Dysplasie : défaut de développement d'un tissu ou d'un organe se traduisant par une immaturité morphologique et physiologique.

Dystrophie : affection résultant de la nutrition déficiente d'un tissu ou d'un organe normalement différencié.

Exons : Fragments de gène dont la séquence d'ADN, après transcription, se retrouve dans les ARNm maturés. Cette partie du gène est le plus souvent codante, donc traduite en protéine.

Gènes : les gènes représentent les unités physiques et fonctionnelles élémentaires de l'hérédité. L'ensemble des gènes et des portions non-codantes de l'ADN d'un organisme constitue son génome.

Génotype : combinaison des allèles chez un individu pour un ou plusieurs gènes.

Héréditaire : se dit d'un caractère qui se transmet de génération en génération.

Hétérosome ou gonosome : chromosomes sexuels (X et Y chez les Mammifères).

Identical By Descent : se dit de deux ou plusieurs allèles qui sont des copies identiques du même allèle ancestral.

Incidence : Le taux d'incidence est le nombre de nouveaux cas observés dans une population donnée, divisé par la taille de cette population et la durée de la période d'observation

Intervalle de confiance : permet d'évaluer la précision de l'estimation d'un paramètre statistique sur un échantillon.

Introns : Fragment d'un gène situé entre deux exons. Les introns sont présents dans l'ARNm immature et absents dans l'ARNm mature. Fragment "non codant" du gène.

Locus/Loci : emplacement(s) physique(s) précis et invariable sur un chromosome.

Lod score « Z » : estimation de la probabilité de liaison entre deux marqueurs.

Marqueurs polymorphes : loci présentant plusieurs allèles qui vont servir de balise le long des chromosomes.

Métacentrique : se dit d'un chromosome dont le centromère est central.

Mutation : toute modification de la séquence de l'ADN à partir du génome sauvage.

Odds Ratio : rapport de la probabilité d'un événement dans une population étudiée sur la probabilité de ce même évènement dans une population témoin.

Pénétrance : en génétique la pénétrance est la portion d'individus possédant un génotype donné qui exprime le phénotype correspondant.

Pénétrance incomplète : des individus de génotype identique n'expriment pas tous le même phénotype.

Phénotype : il constitue le résultat de l'expression du génotype.

Prévalence : mesure de l'état de santé d'une population à un moment donné. C'est le rapport entre le nombre d'individus atteint sur le nombre d'individus composant la population.

p-value : probabilité d'obtenir la même valeur du test si l'hypothèse nulle était vraie.

Recombinaison : échange réciproque de matériel génétique entre chromosomes homologues, survenant en général au moment de la méiose au niveau des chiasmas.

SNP : variation d'une seule paire de bases du génome entre individus d'une même espèce.

Taux de recombinaison  $\theta$  : pourcentage de recombinaison entre deux marqueurs qui se produisent lors de la méiose, permet d'évaluer la distance génétique entre les deux marqueurs.

Test de  $\chi^2$  : permet de tester l'adéquation d'une série de données à une famille de lois de probabilité ou de tester l'indépendance entre deux variables aléatoires.



# ANNEXE : Examen de confirmation du Border Collie (d'après [123])

## Confirmation des Border collies

Date : ..... Lieux : .....  
 Nom de l'expert : .....  
 Nom du chien : ..... Né(e) le : .....  
 Propriétaire : ..... Producteur : .....

Utilisation : Ovin Bovin Troupeau Loisirs Autres :

**Identification :**

Tatouage N° ..... Endroit : ..... Lisible :  OUI  NON

Puce N° .....

Absence d'identification  \*\*\*\*

**EXAMEN PHYSIQUE**

**NOTE**

Eliminatoire pour TI Eliminatoire

*Le chien est attaché, le maître est à plus de 20 mètres ; ce test est à réaliser hors de la présence des animaux (dans la cour de ferme par ex.)*

**I - L'examinateur s'approche du chien pour le toucher :**

Le chien est content ou indifférent (stable)  5  
 Le chien est méfiant, réservé ( sensible)  3  
 Le chien recule, cherche à fuir ( craintif)  1  
 Le chien cherche à mordre, signes d'agressivité(agressif)  0 \*\*\*\*

**II - L'examinateur prend le chien en laisse :**

Le chien marche à côté (soumis)  5  
 Le chien va et vient, regarde ailleurs ( distrait)  4  
 Le chien se tient devant et tire ( décideur)  3  
 Le chien se tient derrière et tire ( inquiet)  1

**III- L'examinateur manipule le chien :**

Le chien se laisse manipuler sans réserve, il est confiant (stable)  5  
 Le chien se laisse manipuler mais il est méfiant (inquiet)  3  
 Le chien refuse la manipulation; fin du test (instable)  0 \*\*\*\*

Hauteur au garrot : ..... Cm Tour de poitrine : ..... Cm

Couleur de la robe : ..... Blanc dominant \*\*\*\*

Nature du poil : .....

Dentition : Bonne dentition et bon articulé dentaire   
 Hors normes ( prognathe, absence de dents,...) tolérance PM1  \*\*\*\*

Pour les mâles : Présence des 2 testicules  OUI  NON \*\*\*\*

**EXAMEN AU TROUPEAU**

**NOTE**

**Conditions du test**

*Le test doit s'effectuer sur un lot important d'ovins (+ de 30 brebis) ou de 5 ou 6 génisses ; certains éléments pouvant influencer sur le comportement du chien pendant le test au troupeau, il est donc important de noter les conditions du test pour pouvoir en tenir compte lors de réévaluation.*

Nombre et Race des animaux : .....

Type d'animaux (brebis pleines, brebis suitées, agnelles,béliers, autres...) : .....

Animaux habitués à être manipulés au chien :  OUI  NON

Conditions climatiques Soleil Pluie Vent Neige Autre

Type de Terrain : .....

## Les animaux sont dans un cercle

### INTERET

Le test suivant, réalisé en l'absence du maître, doit permettre de vérifier si le chien a un intérêt pour le troupeau et une motivation suffisamment forte malgré la non-participation de son maître.

L'attitude du chien est jugée à chacune des 4 phases.

Cette analyse sera faite en prenant en compte l'âge du chien et son niveau de dressage, donc de soumission à son maître.

#### **I - L'examineur s'approche des animaux avec le chien en laisse sur environ 20m puis fait un tour autour du cercle :**

Marche au pied en fixant les animaux (motivé-soumis)	<input type="checkbox"/>	5
Tire en avant (motivé-décideur)	<input type="checkbox"/>	4
Suit sans regarder les animaux (inhibé)	<input type="checkbox"/>	1
Tire en arrière, cherche à fuir (inquiet)	<input type="checkbox"/>	0

#### **II - Le chien est lâché à une distance de 20m des animaux au cercle :**

Part aux animaux et se positionne (rabatteur)	<input type="checkbox"/>	5
Part et encercle (contient)	<input type="checkbox"/>	4
Part et se bloque	<input type="checkbox"/>	3
Reste aux pieds et fixe les animaux (passif)	<input type="checkbox"/>	1
Est indifférent (reste ou vagabonde)	<input type="checkbox"/>	0

#### **III - L'examineur rejoint le troupeau et fait bouger les brebis :**

Le chien bouge avec les brebis, mais sans se positionner (subi)	<input type="checkbox"/>	3
Cherche surtout à se positionner à midi (rabatteur)	<input type="checkbox"/>	5
Cherche surtout à encercler (contient)	<input type="checkbox"/>	4
Bouge peu ou pas, mais fixe les animaux (passif)	<input type="checkbox"/>	1
Est indifférent	<input type="checkbox"/>	0

Observation du port de la queue :	Normal	<input type="checkbox"/>	3
	Entre les pattes	<input type="checkbox"/>	2
	En l'air, chien non excité	<input type="checkbox"/>	1
	En l'air, chien excité	<input type="checkbox"/>	0

Observation de l'aboiement :	N'aboie pas	<input type="checkbox"/>	2
	Aboie	<input type="checkbox"/>	0

#### **IV - L'examineur revient seul vers le point de départ :**

Le chien reste aux animaux (motivé)	<input type="checkbox"/>	5
Revient avec l'examineur (dependant)	<input type="checkbox"/>	2
Retourne vers son maître ou le cherche (inquiet)	<input type="checkbox"/>	1
Vagabonde	<input type="checkbox"/>	0

## Travail sur les animaux en liberté

### PUISSANCE ET OEIL

La puissance est la capacité du chien à obtenir le mouvement des animaux.

L'œil est à la fois l'expression de la capacité du chien à se concentrer sur les animaux et le moyen par lequel il les place sous son contrôle.

La prise de possession, c'est la façon dont le chien aborde le troupeau, il combine l'œil et la puissance.

On trouve plusieurs types de comportement :

\* encercleur-bloqueur : le chien empêche le mouvement

\* pousseur : le chien manque de mouvement circulaire (risque de perte de brebis)

\* éclateur

Tous les types intermédiaires existent mais il faut rechercher l'attitude du "chasseur-rabatteur" vers le maître (soumission).

**V - Les animaux sont sortis du cercle, l'examineur encourage le chien (le maître est absent) :**

*C'est l'attitude la plus marquée qui est cochée*

- Contrôle les animaux pour le conducteur (actif)
- Provoque le mouvement et contrôle les animaux pour lui (actif-indépendant)
- Accompagne le mouvement (passif)
- Abandonne les animaux et retourne vers son maître (inquiet-non motivé)
- Poursuit, éclate, agresse (prédateur)

	5
	4
	2
	1
	0

**RETOUR DU MAITRE**

**VI - Le chien est au pied du maître qui l'envoie au troupeau pour une recherche à 50-100m :**

au moins 8 pts  
pour TI      Au moins 5 pts

**Recherche :**

*C'est l'attitude la plus proche d'une réponse qui est cochée*

- Bonne  6
- Trop large  5
- En allant droit sur le troupeau  4
- En coupant l'axe  3
- Avec plusieurs relances  2
- Le chien reste au pied  1
- Le chien part, indifférent au troupeau  0

\*\*\*\*

**Prise de possession :**

- A l'opposé  5
- Sur le coté  4
- Pas d'opposé  3

**Amenée :**

- Amène le troupeau vers le maître  5
- Pousse le troupeau mais ne l'amène pas  3
- Ne démarre pas le troupeau  0

\*\*\*\*

**Attitude/observation :**

- Encerle et bloque  2
- Eclate  1
- Indifférent au troupeau  0

\*\*\*\*

**Observation du port de la queue :**

- Normal  3
- Entre les pattes  2
- En l'air, chien non excité  1
- En l'air, chien excité  0

\*\*\*\*

**Observation de l'aboïement :**

- N'aboie pas  2
- Aboie  0

\*\*\*\*

**VII - Le maître fait travailler le chien sur les animaux en liberté :**

- Contrôle les animaux, les rabat vers son maître(motivé-structurant)  5
- Encerle et contrôle(actif-indépendant)  4
- Se bloque sur l'œil ( passif)  2.a
- Le chien poursuit et éclate (prédateur)  2.b
- Est indifférent aux animaux  0

\*\*\*\*

**VIII -Le maître demande à son chien de contrôler le troupeau autour de lui pendant qu'il attrape une brebis ou touche une génisse :**

- Le chien contient les brebis (encerleur soumis)  5
- Le chien a du mal à contenir sur le maître (subi en controlant)  3
- Le chien ne contrôle pas et ne serre pas ( subi sans controler)  1.a
- Le chien s'excite, éclate (inquiet)  1.b

## MENTAL

Au moins 7 pts    Au moins 4 pts  
pour TI

### IX - Le troupeau étant bloqué, l'examinateur provoque un affrontement

#### entre le chien et certains animaux :

Le chien cherche à mordre le nez des animaux	<input type="checkbox"/>	5.a	
Est présent mais ni fuyant, ni mordeur	<input type="checkbox"/>	5.b	
Cherche à mordre n'importe où, mais ne s'excite pas	<input type="checkbox"/>	4	
Agresse et s'excite	<input type="checkbox"/>	1	
Refuse l'affrontement mais reste présent	<input type="checkbox"/>	2	
Cherche à fuir	<input type="checkbox"/>	0	****

Observation du port de la queue :	Normal	<input type="checkbox"/>	3	
	Entre les pattes	<input type="checkbox"/>	2	
	En l'air, chien non excité	<input type="checkbox"/>	1	
	En l'air, chien excité	<input type="checkbox"/>	0	****

Observation de l'aboiement :	N'aboie pas	<input type="checkbox"/>	2	
	Aboie	<input type="checkbox"/>	0	****

*Le lot d'animaux est enfermé dans un parc (parc de tri, bâtiment, bord de clôture...), relativement serré.  
Le maître entre dans le parc avec son chien.*

### X - Le maître incite le chien à passer entre la barrière (ou le mur) et les animaux po

Au moins 6 pts    Au moins 4 pts  
pour TI

#### Le maître suit le chien. Ils font un passage dans un sens, puis dans l'autre :

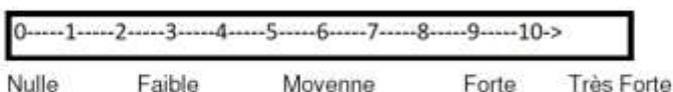
Le chien avance et passe entre les animaux et la paroi	<input type="checkbox"/>	5	
Hésite mais passe	<input type="checkbox"/>	4	
Passe en agressant	<input type="checkbox"/>	3	
Refuse de passer et a peur	<input type="checkbox"/>	0	****

Observation du port de la queue :	Normal	<input type="checkbox"/>	3	
	Entre les pattes	<input type="checkbox"/>	2	
	En l'air, chien non excité	<input type="checkbox"/>	1	
	En l'air, chien excité	<input type="checkbox"/>	0	****

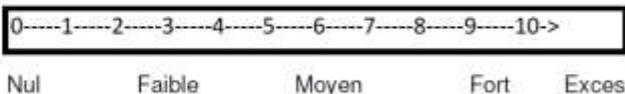
Observation de l'aboiement :	N'aboie pas	<input type="checkbox"/>	2	
	Aboie	<input type="checkbox"/>	0	****

### APPRECIATION GENERALE DE LA PUISSANCE ET DE L'ŒIL :

#### La puissance du chien :



#### L'œil du chien :



Date: \_\_\_\_\_ Nom de l'expert : \_\_\_\_\_  
Lieu : \_\_\_\_\_

# **Bibliographie**

- [1] Acland G, Blanton SH, Hershfiels B, Aguire GD, (1994)  
XLPR : A canine retinal degeneration inherited as an X-linked trait.  
Am J Med Gen, 52, 27-33
- [2] Aguirre GD, (1976)  
Inherited retinal degenerations in the dog.  
Trans Amer Acad Ophthalmol and Otol, 81, 667-676
- [3] Aguirre GD, Farber D, Lolley R, Fletcher RT, Chader GT, (1978)  
Rod-cone dysplasia in Irish setters : a defect in cyclic GMP metabolism in visual cells.  
Science, 22, 1133-1134
- [4] Aguirre GD, Baldwin V, Pearce-Kelling S, Narfström K, Ray K, Acland GM, (1998)  
Congenital stationary night blindness in the dog : common mutation in the RPE65 gene indicates founder effect.  
Molecular vision, 30, 4-23
- [5] Aguirre GD, Baldwin V, Weeks KM, Acland GM, Ray K, (1999)  
Frequency of the codon 807 mutation in the cGMP phosphodiesterase beta-subunit gene in Irish setters and other dog breeds with hereditary retinal degeneration.  
J Hered, 90, 143-147
- [6] Akers M, Denbow M, (2008)  
Anatomy and physiology of domestic animals.  
Blackwell publishing, Ames, 624p.
- [7] Azoulay T, Laforge H, (2007)  
Pathologie du cristallin  
In Ophtalmologie du chien, Prat Med Chir Anim Comp, Paris, 121-134

- [8] Barnett KC, (1965)  
Canine retinopathies I: History and review of the literature.  
J Small Anim Pract, 6, 41-45
- [9] Barnett KC, (1965)  
Canine retinopathies II: The miniature and Toy Poodle.  
J Small Anim Pract, 6, 93-109
- [10] Barnett KC, (1965)  
Canine retinopathies III: The other breeds.  
J Small Anim Pract, 6, 185-196
- [11] Barnett KC, (1965)  
Retinal atrophy.  
Vet Rec, 77, 1543-1560
- [12] Barnett KC, (1965)  
Two forms of hereditary and progressive retinal atrophy in the dog : I- The  
Miniature Poodle; II- The Labrador Retriever.  
J Amer Anim Hosp Assos, 1, 234-245
- [13] Barnett KC, (1969)  
Central progressive retinal atrophy in the Labrador Retriever.  
Vet Ann, 17-142
- [14] Barnett KC, Dunn WL, (1969)  
The international sheepdog society and progressive retinal atrophy.  
J Small Anim Pract, 10, 301-307
- [15] Bedford PGC, (1984)  
Retinal Pigment epithelial dystrophy (CPRA). A study of the disease in the  
Briard.  
J Small Anim Pract, 25, 129-138

- [16] Bérard V, (2002)  
Contribution à l'étude de l'atrophie progressive de la rétine chez le Border Collie : renseignements fournis par 250 exemplaires pratiqués chez 188 chiens.  
Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 99p.
- [17] Breen M, Jouquand S, Renier C, Mellersh CS, Hitte C, Holmes NG, Chéron A, Suter N, Vignaux F, Bristow AE, Priat C, McCann E, André C, Boundy S, Gitsham P, Thomas R, Bridge WL, Spriggs HF, Ryder EJ, Curson A, Sampson J, Ostrander EA, Binns MM, Galibert F, (2001)  
Chromosome-Specific Single-Locus FISH Probes Allow Anchorage of an 1800-Marker Integrated Radiation-Hybrid/Linkage Map of the Domestic Dog Genome to All Chromosome.  
Genome Res, 11, 1784-1785
- [18] Bullock P, Miller J, Botchan M, (1986)  
Effects of poly[d(pGpT).d(pApC)] and poly[d(pCpG).d(pCpG)] repeats on homologous recombination in somatic cells.  
Mol Cell Biol, 6, 3948-3953
- [19] Cacheux P, (1999)  
A propos de sélection.  
Bulletin de l'association française du Border Collie, 37p.
- [20] Chang HS, Mizukami K, Yakubi A, Hossain MA, Rahman MM, Uddin MM, Arai T, Yamato O, (2010)  
A novel rapid genotyping technique for Collie eye anomaly : SYBR Green-based real-time polymerase chain reaction method applicable to blood and saliva specimens on Flinders Technology Associates filter paper.  
J Vet Diagn Invest, 22, 708-715

- [21] Chaudieu G, (1989)  
Les affections des annexes oculaires  
In : Les affections héréditaires de l'œil du chien, Société Centrale Canine,  
Paris, 58-67
- [22] Chaudieu G, (1992)  
Affections dysplasiques et dégénératives héréditaires de la rétine du chien :  
revue de la littérature et observations personnelles. Etude spéciale des lésions à  
caractère localisé.  
Prat Med Chir Anim Comp, 27, 647-677
- [23] Chaudieu G, (1996)  
Elements d'études simples des affections du fond d'œil chez les carnivores  
domestiques.  
Prat Med Chir Anim Comp, 31, 7-32
- [24] Chaudieu G, (2001)  
Etude de l'atrophie progressive de la rétine chez le Border Collie :  
renseignements fournis par 213 examens pratiqués chez 161 chiens.  
Prat Med Chir Anim Comp, 1, 55-73
- [25] Chaudieu G, Molon-Noblot S, (2007)  
Affections héréditaires du fond d'œil.  
In Ophtalmologie du chien, Prat Med Chir Anim Comp (eds.), Paris, 153-168
- [26] Chaudieu G, Chahory S (2013)  
Affections oculaires héréditaires ou à prédisposition raciale chez le chien.  
2ème édition  
Editions du Point Vétérinaire, Reuil Malmaison, 491p.

- [27] Churchill JD, Bowne SJ, Sullivan LS, Lewis RA, Wheaton DK, Birch DG, Branham KE, Heckenlively JR, Daiger SP, (2013)  
Mutations in the X-linked retinitis pigmentosa genes RPGR and RP2 found in 8.5% of families with a provisional diagnosis of autosomal dominant retinitis pigmentosa.  
Invest Ophthalmol Vis Sci., 54, 1411-6
- [28] Clerc B, (1989)  
Les affections du segment postérieur. Le fond d'œil  
In Les affections héréditaires de l'œil du chien, Société centrale canine, Paris, 97-106
- [29] Clerc B, (1997)  
Examen de l'œil et de ses annexes  
In Ophtalmologie vétérinaire 2<sup>ème</sup> édition, Editions du Point Vétérinaire, Maison Alfort, 43-88
- [30] Clerc B, (1997)  
Rétine, fond d'œil et nerf optique  
In Ophtalmologie vétérinaire 2<sup>ème</sup> édition, Editions du Point Vétérinaire, Maison Alfort, 419-455
- [31] Coupry V, (1992)  
Principales caractéristiques et maintenance de dix races de bergers  
Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine, Créteil, 63p.
- [32] Dean E, Jégou JP, (2007)  
Techniques d'examen de l'œil  
In Ophtalmologie du chien, Prat Med Chir Anim Comp (eds.), Paris, 25-34

- [33] Dekomien G, Runte M, Godde R, Epplen JT, (2000)  
Generalized progressive retinal atrophy of Sloughi dog sis due to an 8-bp insertion in exon 21 of the PDE6B gene.  
Cytogenet Cell Genet, 90, 261-267
- [34] Dekomien G, Vollrath C, Petrasch-Parwez E, Boevé MH, Akkad DA, Gerding WM, Epplen JT,(2010)  
Progressive retinal atrophy in Schapendoes dogs : mutation of newly identified CCDC66 gene.  
Neurogenetics, 11, 163-174
- [35] Denis B, (1996)  
Les bases de la génétique médicale.  
Point vétérinaire, n°spécial 28, 17-21
- [36] Denis B, (1997)  
Génétique et sélection chez le chien  
Prat Med et Chir des Anim Comp Editions, Paris, 232p.
- [37] Dragana D, Bojanic P, Tarr T, Gale GD, Smith DJ, Bok D, Chen B, Nusinowitz S, Lövgren-Sandblom A, Björkhem I, Edwards PA, (2010)  
Differential expression and function of ABCG1 and ABCG4 during development and aging.  
Journal of Lipid Research, 51, 169-181
- [38] Dufier JL, Kaplan J (2005)  
Oeil et génétique.  
Elsevier Masson, Issy les Moulineaux, 600p.
- [39] Franqc E, (2007)  
Les origines des races européennes de chiens de berger.  
Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine, Créteil, 110p.

- [40] Fraser-Roberts JA, Pembrey ME, (1983)  
An introduction to medical genetics, Seventh edition  
Oxford University Press Oxford, 310p.
- [41] Galibert F, Andre C, Hitte C, (2004)  
Dog as a mammalian genetic model.  
Med Sci (Paris), 20, 761-6
- [42] Galibert F, André C, (2006)  
The dog and its genome.  
Med Sci (Paris). 22, 806-8
- [43] Galibert F, André C, (2006)  
The dog genome.  
Genome Dyn., 2, 46-59
- [44] Galibert F, Quignon P, Hitte C, André C, (2011)  
Toward understanding dog evolutionary and domestication history.  
C R Biol., 334, 190-6
- [45] Gharahkhani P, O’Leary C, (2012)  
Primary Lens Luxation in Australian Tenterfiel and Miniature Bull Terriers is  
due to an old ADAMTS17 Mutation and is an Additive Trait.  
Open Genomics, 5, 5-7
- [46] Genin E, Todorov AA, Clerget-Darpoux F, (1998)  
Optimization of genome search strategies for homozygosity mapping :  
influence of marker spacing on power and threshold criteria for identification of  
candidate regions.  
Ann Hum Genet, 62, 419-429
- [47] Gentilini F, Rovesti GL, Turba ME, (2009)  
Real-time detection of the mutation responsible for progressive rod-cone  
degeneration in Labrador Retriever dogs using locked nucleic acid TaqMan probes.  
J Vet Diagn Invest, 21, 689-692

- [48] Gieser L, Fujita R, Göring HH, Ott J, Hoffman DR, Cideciyan AV, Birch DG, Jacobson SG, Swaroop A, (1998)  
A novel locus (RP24) for X-linked retinitis pigmentosa maps to Xq26-27.  
*Am J Hum Genet.*, 63, 1439-47
- [49] Goldstein O, Zangler B, Pearce-Kelling S, Sidjanin DJ, Kilas JW, Felix J, Acland GM, Aguirre GD, (2006)  
Linkage disequilibrium mapping in domestic dog breeds narrows the progressive rod-cone degeneration interval and identifies ancestral disease-transmitting chromosome.  
*Genomics*, 88, 541-550
- [50] Goldstein O, Kukulova, Aguirre GD, Acland GM, (2010)  
Exonic sine insertion in STK38L causes canine early retinal degeneration.  
*Genomics*, 96, 362-368
- [51] Gordon D, Corwin MB, Mellersh CS, Ostrander EA, Ott J, (2003)  
Establishing appropriate genome-wide significance levels for canine linkage analyses.  
*Journal of heredity*, 94, 1-7
- [52] Gough A, Thomas A, (2009)  
*Prédispositions raciales et maladies héréditaires du chien et du chat.*  
Editions Med'Com, Paris, 256p.
- [53] Gould D, Pettitt L, McLaughlin B, Holmes N, Forman O, Thomas A, Ahonen S, Lohi H, O'Leary C, Sargan D, Mellersh C, (2011)  
ADAMTS17 mutation associated with primary lens luxation is widespread among breeds.  
*Vet Ophthalmol*, 14, 378-384

- [54] Griffiths, Miller, (1997)  
Liaison génétique : les bases de l'établissement de cartes chromosomiques chez les eucaryotes. 5<sup>ème</sup> édition  
In De Boeck (eds), Introduction à l'analyse génétique, Bruxelles, 123-154
- [55] Grover S, Fishman GA, Anderson RJ, Lindeman M, (2000)  
A longitudinal study of visual function in carriers of X-linked recessive retinitis pigmentosa.  
Ophthalmology, 107, 386-96
- [56] Guziewicz KE, Zangerl B, Lindauer SJ, Mullins RF, Sandmeyer LS, Grahn BH, Stone EM, Acland GM, Aguirre GD, (2007)  
Bestrophin gene mutations cause multifocal retinopathy : a novel animal model for best disease.  
Invest Ophthalmol Vis Sci, 48, 1959-1967
- [57] Hitte C, Madeoy J, Kirkness EF, Priat C, Lorentzen TD, Senger F, Thomas D, Derrien T, Ramirez C, Scott C, Evanno G, Pullar B, Cadieu E, Oza V, Lourgant K, Jaffe DB, Tacher S, Dréano S, Berkova N, André C, Deloukas P, Fraser C, Lindblad-Toh K, Ostrander EA, Galibert F, (2005)  
Facilitating genome navigation : survey sequencing and dense radiation-hybrid gene mapping.  
Nat Rev Genet, 6, 643-648
- [58] Hodgeman SEJ, Parry HB, (1949)  
Progressive retinal atrophy in dogs I. The disease in Irish Setter (rcd).  
Vet Rec, 61, 185-190
- [59] Isnard J, (2005)  
Etude des paramètres génétiques des qualités de travail du Border Collie, chien de troupeau.  
Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Créteil, 131p.

- [60] Jeon MB, (2008)  
A phosphoducin gene mutation does not cause Progressive Retinal Atrophy in Korean miniature Schnauzer.  
Anim Gene, 39, 455-456
- [61] Kijas JW, Miller BJ, Pearce-Kelling SE, Aguirre GD, Acland GM, (2003)  
Canine Models of Ocular Disease : Outcross Breedings Define a Dominant Disorder Present in th English Mastiff and Bull Mastiff Dog Breeds.  
J Hered, 94, 27-30
- [62] King R, (1975)  
Handbook of genetics, volume 4 Vertebrates of genetic interest  
Springer US, 669p.
- [63] Koch SA, Rubin LF, (1972)  
Distribution of cones in retina of the normal dog.  
Am J Vet Res, 33, 361-363
- [64] Kommonen B, Dawson WW, Parmer R, (1991)  
Pigment epithelial function in the canine retina.  
Am J Vet Res, 52, 1341-1344
- [65] König, Liebich, (2006)  
Veterinary anatomy of domestic Mammals, 3éme edition  
Schattauer GmbH, Stuttgart, 770p.
- [66] Kropatsch R, Petrasch-Parwez E, Seelow D, Schlichting A, Gerdins WM, Akkad DA, Epplen JT, Dekomien G, (2010)  
Generalizes progressive retinal atrophy in the Irish Glen of Imaal Terrier is associated with a deletion in the ADAM9 gene.  
Mol Cell Probes, 24, 357-363

- [67] Kukekova AV, Goldstein O, Johnson JL, Richardson MA, Pearce-Kelling SE, Swaroop A, Friedman JS, Aguirre GD, Acland GM, (2009)  
Canine RD3 mutation establishes rod-cone dysplasia type 2 (rcd2) as ortholog of human and murine rd3.  
Mamm Genome, 20, 109-123
- [68] Lander ES, Botstein D, (1987)  
Homozygosity mapping : a way to map human recessive traits with the DNA of inbred children.  
Science, 236, 1567-1570
- [69] Langford CF, Fischer PE, Binns MM, Holmes NG, Carter NP, (1996)  
Chromosome-specific paints from a high-resolution flow karyotype of the dog.  
Chromosome Res, 4, 115-123
- [70] Le Brun, (1979)  
Le chien de berger en Grande-Bretagne Le Border Collie dressage et utilisation.  
Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Créteil, 72p.
- [71] Legatte P, (1994)  
Le Border Collie.  
Editions De Vecchi, Paris, 214p.
- [72] Le Meur G, Weber M, Péréon Y, Mendes-Madeira A, Nivard D, Deschamps JY, Moullier P, Rolling F, (2005)  
Postsurgical assessment and long-term safety of recombinant adeno-associated virus-mediated gene transfer into the retinas of dogs and primates.  
Arch Ophthalmol, 123, 500-506
- [73] Lescure F, (1998)  
Atlas d'angiographie fluorescéine du fond d'œil des carnivores domestiques.  
Edition PMAC, 307p.

- [74] Lignerieux Y, (1997)  
Eléments d'anatomie ophtalmologique du chien  
in Ophtalmologie du chien, Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie, supplément au n°4, 7-20
- [75] Lindblad-Toh K, Wade CM, Mikkelsen TS, Karlsson EK, Jaffe DB, Kamal M, Clamp M, Chang JL, Kulbokas EJ 3rd, Zody MC, Mauceli E, Xie X, Breen M, Wayne RK, Ostrander EA, Ponting CP, Galibert F, Smith DR, DeJong PJ, Kirkness E, Alvarez P, Biagi T, Brockman W, Butler J, Chin CW, Cook A, Cuff J, Daly MJ, DeCaprio D, Gnerre S, (2005)  
Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog.  
Nature, 438, 803-819
- [76] Lingaas F, Sorensen A, Juneja RK, Johansson S, Fredholm M, Wintero AK, Sampson J, Mellersh C, Curzon A, Holmes NG, Binns MM, Dickens HF, Ryder EJ, Gerlach J, Bäumle E, Dolf G, (1997)  
Towards construction of a canine linkage map : establishment of 16 linkage groups.  
Mamm Genome, 8, 218-221
- [77] Lippmann T, Jonkisz A, Dobosz T, Petrasch-Parwez A, Epplen JT, Dekomien G, (2007)  
Haplotype-defines linkage region for gPRA in Schapendoes dogs.  
Mol Vis, 7, 174-180
- [78] Magnusson H, (1911)  
Über retinitis pigmentosa und konsanguinität beim Hunde.  
Arch. Vergl. Ophtalmol., 2, p147
- [79] Maloisel L, Rossignol JL, (1998)  
Suppression of crossing-over by DNA methylation in *Ascobolus*.  
Genes Dev, 12, 1381-1389

- [80] Melamud A, Shen GQ, Chung D, Xi Q, Simpson E, Li L, Peachey NS, Zegarra H, Hagstrom SA, Wang QK, Traboulsi EI, (2006)  
Mapping a new genetic locus for X linked retinitis pigmentosa to Xq28.  
J Med Genet., 43, p27
- [81] Mellersh CS, Langston AA, (1997)  
A linkage map of the canine genome.  
Genomics, 46, 326-336
- [82] Mellersh CS, Pettitt L, Forman OP, Vaudin M, Barnett KC, (2006)  
Identification of mutation in HSF4 in dog of three different breeds with hereditary cataracts.  
Vet Ophtalmology, 9, 369-378
- [83] Mellersh CS, Graves KT, McLaughlin B, Ennis RB, Pettitt L, Vaudin M, Barnett KC, (2007)  
Mutation in HSF4 associated with early but not late-Onset hereditary cataract in the Boston Terrier.  
Journal of heredity, 5, 531-533
- [84] Mellersh CS, Mclaughlin B, Ahonen S, Pettitt L, Lohi H, Barnett KC, (2009)  
Mutation in HSF4 is associated with hereditary cataract in the Australian Shepherd.  
Vet Ophtalmol, 12, 372-378
- [85] Melville SA, Wilson CL, Chiang CS, Studdert VP, Lingaas F, Wilton AN, (2005)  
A mutation in canine CLN5 causes neuronal céroïde lipofuscinosis in Border collie dogs.  
Genomics, 86, 287-294
- [86] Miyadera K, Acland GM, Aguirre GD, (2012)  
Genetic and phenotypic variations of inherited retinal diseases in dogs ; the power of within- and across-breed studies.  
Mamm Genome, 23, 40-61

- [87] Morton NE, (1955)  
Sequential tests for the detection of linkage.  
Am J Hum Gen, 7, 277-318
- [88] Narfström K, Ekesten B, (1998)  
Diseases of the canine ocular fundus  
In Veterinary ophtalmology third edition, edition Gelatt, Lippincott Williams  
and Wilkins, Philadelphia, 869-934
- [89] Oberbauer AM, Hollingsworth SR, Belanger JM, Regan KR, Famula TR,  
(2008)  
Inheritance of cataracts and primary luxation in Jack Russell Terriers.  
Am J Vet Res, 69, 222-227
- [90] Ostrander E, Kruglyak L, (2000)  
Unleashing the Canine Genome.  
Genome research, 10, 1271-1274
- [91] Parker HG, Kim LV, Sutter NB, Carlson S, Lorentzen TD, Malek TB, Johnson  
GS, DeFrance HB, Ostrander EA, Kruglyak L, (2004)  
Genetic structure of the purebred domestic dog.  
Science, 304, 1160-1164
- [92] Parker HG, Kukekova AV, Akey DT, Goldstein O, Kirkness EF, Baysac KC,  
Mosher DS, Aguirre GD, Acland GM, Ostrander EA, (2007)  
Breed relationships facilitate fine-mapping studies : a 7,8 kb deletion  
cosegregates with Collie eye anomaly across multiple dog breeds.  
Genome Res, 17, 1562-1571
- [93] Parry HB, (1954)  
Degeneration of the dog retina VI. Central progressive retinal atrophy with  
pigment epithelial dystrophy.  
Br J Ophthalmol, 38, 653-668

- [94] Petersen-Jones SM, Entz DD, Sargan DR., (1999)  
cGMP phosphodiesterase-alpha mutation causes progressive retinal atrophy in  
the Cardigan Welsh corgi dog.  
Invest Ophthalmol Vis Sci., 40, 1637-44
- [95] Piacentino J, (1994)  
Le Border Collie  
Ed Association française du Border Collie, Paris, 212p.
- [96] Riis RC, Sheffy BE, Loew E, Kern TJ, Smith JS, (1981)7  
Vitamin E deficiency retinopathy in dogs.  
Am J Vet Res., 42, 74-86
- [97] Rolling F, Le Meur G, Stieger K, Smith AJ, Weber M, Deschamps JY, Nivard  
D, Mendes-Madeira A, Provost N, Péréon Y, Cherel Y, Ali RR, Hamel C, Moullier P,  
(2006)  
Gene therapeutic prospects in early onset of severe retinal dystrophy :  
restoration of vision in RPE65 Briard dogs using an AAV serotype 4 vector that  
specifically targets the retinal pigmented epithelium  
Bull Mem Acad R Med Belg, 161, 497-508
- [98] Roze M, (1992)  
Affections héréditaires de la rétine du chien (Anomalies des couches externes)  
Prat Med Chir Anim Comp, 27, 619-644
- [99] Rubin LF, (1989)  
Inherited diseases in purebred dogs  
Williams and wilkins editions, Baltimore, 30, 306-310
- [100] Sargan D, Sampson J, Binns MM, (2001)  
Molecular genetics of the dog  
In The genetics of the dog, Ruvinsky and Sampson, CABI Publishing, New  
York, 139-158

- [101] Schmidt-Morand D, De Geyer G, (2007)  
Affections des paupières  
In Ophthalmologie du chien, Prat Med Chir Anim Comp, Paris, 35-57
- [102] Seddon JM, Hampson EC, Smith RI, Hughes IP, (2006)  
Genetic heterogeneity of day blindness in Alaskan Malamutes  
Anim Genet, 37, 407-410
- [103] Slatter D, (1990)  
The retina  
In Fundamentals of ophthalmology, Saunders, Philadelphia, 400-436
- [104] Switoński M, Reimann N, Bosma AA, Long S, Bartnitzke S, Pieńkowska A, Moreno-Milan MM, Fischer P, (1996)  
Report on the progress of standardization of the G-banded canine (*Canis familiaris*) Karyotype, Committee for the Standardized Karyotyp of the Dog (*Canis familiaris*).  
Chromosome Res, 4, 306-309
- [105] Tagu D, Moussard C, (2003)  
Principes des techniques de biologie moléculaire, 2ème édition, INRA éditions, 176p.
- [106] Taylord RM, Farrow BRH, (1988)  
Ceroid lipofuscinosis in Border Collie dogs.  
Acta Neuropathol, 75, 627-631
- [107] Tiret L, Kessler JL, Panthier JJ, (1996)  
Intérêts pratique de l'étude du génome du chien.  
Bull Soc Vét Prat De France, 3, 123-134
- [108] Turner S, Bouhanna L, (2010)  
Guide pratique d'ophtalmologie vétérinaire  
Editions Med'com, Paris, 370p.

- [109] Veske A, Nilsson SE, Narfström K, Gal A, (1999)  
Retinal dystrophy of Swedish Briard/Briard – Beagle dog is due to a 4-bp deletion in RPE65.  
*Genomics*, 57, 57-61
- [110] Vignaux F, Hitte C, Priat C, Chuat JC, Andre C, Galibert F, (1999)  
Construction and optimization of a dog whole-genome radiation hybrid panel.  
*Mamm Genome*, 10, 88-894
- [111] Vilboux T, (2007)  
Recherche de gènes responsables de rétinopathies : apports du modèle canin.  
Thèse de doctorat universitaire, Faculté de Médecine, Rennes, 219p.
- [112] Vilboux T, Chaudieu G, Jeannin P, Delattre D, Hedan B, Bourgain C, Queney G, Galibert F, Thomas A, André C, (2008)  
Progressive Retinal Atrophy in the Border Collie : A new XLPRA.  
*BMC Vet Res*, 3, 4-10
- [113] Werner P, Mellersh CS, Raducha MG, DeRose S, Acland GM, Prociuk U, Wiegand N, Aguirre GD, Henthorn PS, Patterson DF, Ostrander EA, (1999)  
Anchoring of canine linkage groups with chromosome-specific markers.  
*Mamm Genome*, 10, 814-823
- [114] Wiik AC, Wade C, Biagi T, Ropstad EO, Bjerkas E, Lindblad-Toh K, Lingaas F, (2008)  
A deletion in nephronophthisis 4 (NPHP4) is associated with recessive cone-rod dystrophy in standard wire-hairs dachshund.  
*Genome Res*, 18, 1415-1421
- [115] Wiik AC, Thoresen SI, Wade C, Lindblad-Toh K, Lingaas F, (2009)  
A population study of a mutation allele associated with cone-rod dystrophy in the standard wire-haired dachshund.  
*Anim Genet*, 40, 572-574

- [116] Willis MB, (1979)  
Genetic aspects of lens luxation in the Tibetan Terrier.  
Vet Record, 5, 409-412
- [117] Zangler B, Goldstein O, Philp AR, Lindauer SJ, Pearce-Kelling SE, Mullins RF, Grophodatsky AS, Ripoll D, Felix JS, Stone EM, Acland GM, Aguirre GD, (2006)  
Identical mutation in a novel retinal gene causes progressive rod-cone degeneration in dogs and retinitis pigmentosa in humans.  
Genomics, 88, 551-563
- [118] Zangerl B, Johnson JL, Acland GM, Aguirre GD, (2007)  
Independent origin and restricted distribution of RPGR deletions causing XLPR. A.  
J Hered, 98, 526-530
- [119] Zangerl B, Wickstrom K, Slavik J, Lindauer SJ, Ahonen S, Schelling C, Lohi H, Guziwicz KE, Aguirre GD, (2010)  
Assessment of canine BEST1 variations identifies new mutations and establishes an independent bestrophinopathy model (cmr3).  
Mol Vis, 16, 2791-2804
- [120] Zhang Q, Acland GM, Parshall CJ, Haskell J, Ray K, Aguirre GD, (1998)  
Characterization of canine photoreceptor phosphodiesterase cDNA and identification of a sequence variant in dogs with photoreceptor dysplasia.  
Gene., 215, 231-9
- [121] Zhang Q, Acland GM, Wu WX, Johnson JL, Pearce-Kelling S, Tulloch B, Vervoort R, Wright AF, Aguirre GD, (2002)  
Different RPGR exon ORF15 mutations in Canids provide insights into photoreceptor cell degeneration.  
Hum Mol Genet, 11, 993-1003

- [122] Zhuang Z, Gusev A, Cho J, Pe'er I, (2012)  
Detecting identity by descent and homozygosity mapping in whole-exome sequencing data.  
PLoS One, 10
- [123] Site internet de l'association française du Border Collie (Page consultée le 14 décembre 2012) [en ligne]  
Adresse URL : [www.lafbc.net](http://www.lafbc.net)
- [124] Logiciel Cyrillic (Page consultée le 15 mai 2012)  
Site internet Cyrillic [en ligne]  
Adresse URL : <http://www.cyrillicsoftware.com/>
- [125] Site internet de Ensembl (Page consultée en août 2010) [en ligne]  
Adresse URL : [www.ensembl.org/](http://www.ensembl.org/)
- [126] Fédération cynophile internationale (Page consultée le 08 janvier 2013)  
Site internet de la FCI [en ligne]  
Adresse URL : <http://www.fci.be/presentation.aspx>
- [127] Genecard (Page consultée en août 2010)  
Site Internet de Genecard [en ligne]  
Adresse URL : [www.genecards.org/](http://www.genecards.org/)
- [128] Infobiogen (Page consultée en août 2010)  
Site Internet d'Infobiogen [en ligne]  
Adresse URL : [http://www.infobiogen.fr/index\\_site.html](http://www.infobiogen.fr/index_site.html)
- [129] Laboratoire Antagène (Page consultée le 11 octobre 2012)  
Site Internet d'Antagène [en ligne]  
Adresse URL : [http://antagene.com/uploadfichier/FR\\_TARIFS\\_280912.pdf](http://antagene.com/uploadfichier/FR_TARIFS_280912.pdf)
- [130] Laboratoire Optigen (Page consultée le 11 octobre 2012)  
Site Internet d'Optigen [en ligne]  
Adresse URL : [http://www.optigen.com/opt9\\_cltest4collies.html](http://www.optigen.com/opt9_cltest4collies.html)

- [131] Laboratoire PennGen (Page consultée le 08 février 2013)  
Site Internet du laboratoire PennGen [en ligne]  
AdresseURL:  
<http://research.vet.upenn.edu/PennGenHome/tabid/91/Default.aspx>
- [132] Online Mendelian Inheritance in Animals (Page consultée le 08 janvier 2013)  
Site Internet d'OMIA [en ligne]  
Adresse URL : <http://omia.angis.org.au/home/>
- [133] Online Mendelian Inheritance in Man (Page consultée en août 2010)  
Site Internet d'OMIN [en ligne]  
Adresse URL : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>
- [134] Logiciel plink (Page consultée en août 2010)  
Site Internet de plink [en ligne]  
Adresse URL : <http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink/>
- [135] Logiciel Primer3 (Page consultée en août 2010)  
Site Internet Primer 3 [en ligne]  
Adresse URL : <http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>
- [136] Retinal Information Network (Page consultée le 15 février 2013)  
Site Internet de retnet [en ligne]  
Adresse URL : <https://sph.uth.edu/retnet/disease.htm>
- [137] Société centrale canine (Page consultée le 11 octobre 2012)  
Site Internet de la SCC [en ligne]  
Adresse URL : <http://www.scc.asso.fr/Formulaires-sante>
- [138] University of California, Davis (Page consultée le 09 janvier 2013)  
Site Internet de l'UCDAVIS [en ligne]  
Adresse URL : <http://www.vgl.ucdavis.edu/dogmap/>

[139] University of California, Santa Cruz (Page consultée en août 2010)  
Site Internet de UCSC [EN LIGNE]  
Adresse URL : <http://genome.ucsc.edu/>

**OLIVIER AMANDINE**

**L'ATROPHIE PROGRESSIVE DE LA RETINE CHEZ LE CHIEN :  
CONTRIBUTION A L'ETUDE GENETIQUE CHEZ LE BORDER  
COLLIE**

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, 25 Octobre 2013

**RESUME :** L'atrophie progressive de la rétine ou APR entraîne une cécité plus ou moins totale à long terme. Diverses mutations à l'origine de cette maladie sont connues dans de nombreuses races mais pas chez le Border Collie. Dans une première partie, nous rappelons les différents modes de transmission des maladies génétiques, les outils disponibles pour la recherche des gènes responsables des maladies génétiques, ainsi qu'un rappel sur l'anatomie et la physiologie de l'œil. Les principales caractéristiques du Border Collie ainsi que les maladies oculaires et plus particulièrement l'APR ségrégeant dans cette race sont également présentées. Dans une deuxième partie, nous décrivons notre travail de recherche d'une mutation génétique en lien avec l'APR chez le Border Collie. L'étude détaillée d'un arbre généalogique de plus de 700 chiens et la constitution d'une base de données regroupant 2037 certificats oculaires ont apporté des éléments diagnostique et généalogique majeurs pour les analyses génétiques. Le séquençage du gène candidat autosomique ABCG1 n'a pas permis d'identifier de mutation ségrégeant avec l'APR chez le Border Collie.

**MOTS CLES :**

- Atrophie optique
- Rétine
- Border Collie (race canine)
- Maladies héréditaires
- Génétique

**JURY :**

Président :	Monsieur le Professeur A. CALENDER
1er Assesseur :	Madame le Professeur F. GRAIN
2ème Assesseur :	Monsieur le Professeur J.L. CADORE
Membre invité :	Madame le Docteur C. ANDRE

**DATE DE SOUTENANCE : 25 Octobre 2013**

**ADRESSE DE L'AUTEUR :**

3, les Bauquères  
36600 VEUIL