

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2015 – 2016

**ERFELIJKE AANDOENINGEN GEASSOCIEERD MET VACHT- EN
HAARKLEUREN BIJ HET PAARD**

door

Laura BOEL

Promotor: Prof. dr. Luc Peelman

Copromotor: Prof. dr. Alex Van Zeveren

Literatuurstudie in het kader

van de Masterproef

© 2016 *Laura Boel*

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden. Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2015 – 2016

**ERFELIJKE AANDOENINGEN GEASSOCIEERD MET VACHT- EN
HAARKLEUREN BIJ HET PAARD**

door

Laura BOEL

Promotor: Prof. dr. Luc Peelman

Copromotor: Prof. dr. Alex Van Zeveren

Literatuurstudie in het kader

van de Masterproef

© 2016 *Laura Boel*

VOORWOORD

Genetica heeft mij altijd al geïnteresseerd en het onderwerp van deze literatuurstudie sluit zeer goed aan bij mijn eindwerk in de middelbare school. Dit laatste handelde immers over de overerving van haar-en vachtkleuren bij het paard.

Ik vond het zeer moeilijk om aan deze literatuurstudie te beginnen. Maar door een goede begeleiding van mijn promotor, Prof. L. Peelman, is het mij toch gelukt om hierin te groeien en deze studie tot een goed eind te brengen. Graag wil ik hem bedanken voor de steun en tips om mijn literatuurstudie beter te maken. Ook zou ik graag mijn copromotor Prof. A. Van Zeveren bedanken voor het nalezen van mijn literatuurstudie.

Ik heb een zeer goed inzicht gekregen in het opzoeken van wetenschappelijke bronnen en in het verwerken van deze bronnen in een literatuurstudie. Het was dan ook een zeer leerrijke ervaring.

Tot slot wil ik mijn familie en vrienden bedanken die mij gesteund hebben door mijn literatuurstudie mee na te lezen en mij de tijd te geven om aan deze studie te werken.

INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING.....	1
INLEIDING.....	2
LITERATUURSTUDIE.....	3
1. ONTSTAAN VAN HAAR- EN VACHTKLEUREN BIJ HET PAARD	3
1.1 ANATOMIE VAN HAREN EN HAARGROEI.....	3
1.2 PIGMENTSYNTHESE EN REGULATIE VAN PIGMENTSYNTHESE.....	4
1.3 BASISHAARKLEUREN EN GENEN MET INVLOED OP DE BASISHAARKLEUREN	7
1.3.1 Het extensie gen (E).....	8
1.3.2 Het agouti gen (A)	8
1.3.3 Het albino gen (C)	9
1.3.4 Het bruin gen (B).....	9
2. ERFELIJKE AANDOENINGEN GEASSOCIEERD MET HAAR- EN VACHTKLEUREN BIJ HET PAARD	10
2.1 MULTIPLE CONGENITAL OCULAR ANOMALIES	10
2.1.1 Het zilver gen	10
2.1.2 Pathogenese	11
2.1.3 Fokadvies.....	12
2.2 LAVENDER FOAL SYNDROME	12
2.2.1 Het lavendel gen	12
2.2.2 Pathogenese	13
2.2.3 Fokadvies.....	14
2.3 MELANOMEN.....	14
2.3.1 Het grijs gen.....	14
2.3.2 Pathogenese	15
2.3.3 Fokadvies.....	16
2.4 DOMINANT WIT	17
2.4.1 Het dominant wit gen.....	17
2.4.2 Pathogenese	17
2.4.3 Fokadvies.....	18
2.5 ROUAAN	18
2.5.1 Het rouaan gen	18
2.5.2 Pathogenese	19
2.5.3 Fokadvies.....	19
2.6 LETHAL WHITE FOAL SYNDROME	19
2.6.1 Het overo gen.....	19
2.6.2 Pathogenese	19
2.6.2 Fokadvies.....	20
2.7 CONGENITALE STATIONAIRE NACHTBLINDHEID	21
2.7.1 Het luipaard gen	21
2.7.2 Pathogenese	22
2.7.3 Fokadvies.....	23
BESPREKING.....	24
REFERENTIELIJST	25

SAMENVATTING

In deze literatuurstudie wordt een overzicht gegeven van de verschillende aandoeningen die reeds zijn beschreven en waarvan men heeft aangetoond dat ze geassocieerd zijn met een bepaalde haar- en/of vachtkleur bij het paard. Om deze problemen te situeren wordt er eerst een overzicht gegeven van de anatomie en fysiologie van haren en het tot stand komen van haarkleuren.

Er wordt ingegaan op de verschillende pathogeneses voor het tot stand komen van deze aandoeningen en de genen die hierbij betrokken zijn. Deze genen hebben een pleiotrope werking, want ze veroorzaken een bepaalde haarkleur en één of meerdere afwijkingen in het lichaam.

Vermits deze aandoeningen zich tezamen met bepaalde haar- en vachtkleuren uiten en er in de meeste gevallen reeds een oorzakelijke mutatie in een bepaald gen is aangetoond, zijn deze aandoeningen erfelijk. Hierdoor worden er fokadviezen besproken om de frequentie van voorkomen van deze aandoeningen te minimaliseren, rekening houdende met de wensen van de mens in verband met bepaalde haarkleuren.

Trefwoorden: Aandoeningen – Erfelijk - Fokadvies - Haar- en vachtkleuren – Paarden

INLEIDING

Er zijn reeds verschillende aandoeningen beschreven die geassocieerd zijn met bepaalde haar- en vachtkleuren bij het paard. De oorzaak hiervan zijn mutaties in genen met een pleiotrope werking. Vele van deze mutaties werden reeds beschreven, maar nog niet allemaal. Er bestaat ook nog onduidelijkheid over de associatie tussen bepaalde aandoeningen en haar- en vachtkleuren. Waarschijnlijk zijn er nog meer aandoeningen geassocieerd met haar- en vachtkleuren, maar dit moet nog verder onderzocht worden.

Het is belangrijk deze associatie tussen bepaalde aandoeningen en haar- en vachtkleuren te kennen omdat men dit kan gebruiken om het voorkomen van deze aandoeningen te doen verminderen. Men kan namelijk het fokken van paarden met bepaalde kleuren gaan vermijden om op deze manier het voorkomen van deze aandoeningen te vermijden/verminderen. Het is echter niet altijd even gemakkelijk om een drager van een bepaalde kleur te identificeren wanneer deze zich niet fenotypisch uit. Hiervoor zijn reeds verschillende genetische testen ontwikkeld.

LITERATUURSTUDIE

1. ONTSTAAN VAN HAAR- EN VACHTKLEUREN BIJ HET PAARD

1.1 ANATOMIE VAN HAREN EN HAARGROEI

Haren groeien vanuit zakvormige organen, die haarfollikels worden genoemd. Haar bevat keratine, sulfide-rijke proteïnen die lange vezels vormen in de haarschacht. De stevigheid wordt bekomen door de vorming van S-S verbindingen waardoor de vezels sterk met elkaar worden verbonden. De haarschacht bestaat van binnen naar buiten uit drie lagen: een medulla, cortex en cuticula.

De cuticula heeft als functie de haarschacht te verankeren in de follikel en de binnenste keratinevezels te beschermen. De cortex bestaat uit lange keratinevezels, die bij elkaar worden gehouden door een chemisch cement. Haarfollikels zijn in het epidermale epitheel gelegen, waar ook talgklieren rond liggen (Harkey, 1993).

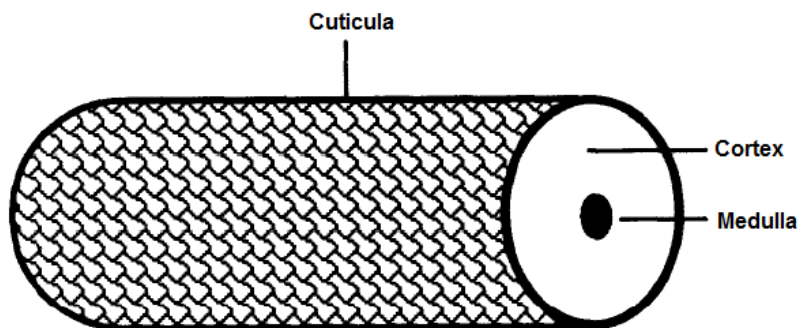


Fig. 1: Dwarsdoorsnede van een haarschacht met de cuticula, cortex en medulla.

(Naar Harkey, 1993)

Er kunnen functioneel drie verschillende zones gezien worden in de haarschacht (Harkey, 1993). De zone gelegen in het diepste punt van de haarfollikel wordt de haarbulbus genoemd. Dit is de plaats waar biologische synthese van de haren plaatsvindt. Deze haarbulbus bestaat uit verschillende lagen epidermale cellen die een haarpapil omvatten waarin bloedvaten gelegen zijn om voedingsstoffen en groeifactoren aan te voeren (Sjastaad et al., 2010). In de zone gelegen boven deze bulbus vindt de keratinisatie plaats. De laatste zone bestaat uit permanent haar (Harkey, 1993; Sjastaad et al., 2010).

Haargroei begint in een germinatie centrum, dat de matrix genoemd wordt. Deze cellen zijn gelegen in de basis van de haarfollikel. Cellen die in deze zone groeien, verhuizen naar de keratinisatiezone. In deze zone wordt er melanine geproduceerd en keratiniseren de cellen. De haarcellen gaan daarna geleidelijk afsterven door hun kern af te stoten en water vrij te laten (Van Scott, 1964; Harkey, 1993).

Haargroei gebeurt cyclisch. Hierbij wisselen periodes van groei en rust elkaar af (Herman et al., 1959; Harkey, 1993). Tijdens de periode van haargroei is er veel bloedaanvoer en –afvoer langs de papil. De activiteit van de haargroei neemt af wanneer de bloedvoorziening afneemt (Sjastaad et al., 2010).

De anagene fase begint wanneer de metabole activiteit van de matrixcellen toeneemt. Een nieuw haar wordt gevormd en groeit geleidelijk naar boven in de haarfollikel. Op dat moment wordt er een onderscheid duidelijk tussen de cuticula, cortex en medulla en begint de keratinisatie.

Na deze periode van actieve haargroei, die een variabele duur kan hebben, gaat de haarfollikel in een catagene fase over. Dit is een transitiefase waarin celdeling stopt, de basis van de haarschacht volledig gekeratiniseerd wordt en de haarfollikel degenereert.

Na deze catagene fase gaat de haarfollikel in een rustfase. In deze fase is er geen haargroei en kan het haar makkelijk verwijderd worden door gewoon te trekken (Van Scott, 1964; Harkey, 1993). Bij paarden en andere diersoorten gebeurt dit cyclisch en wordt deze fase de rui genoemd (Harkey, 1993). Oude haren verliezen hun verankering en worden als het ware weggeduwd door de nieuwe haren. Hierbij gaan alle haren tegelijk dezelfde fase doorlopen en dus ook allemaal tegelijk worden uitgescheiden (Van Scott, 1964).

1.2 PIGMENTSYNTHESE EN REGULATIE VAN PIGMENTSYNTHESE

Pigment wordt geproduceerd door melanocyten afkomstig van de neurale lijst (Sjastaad et al., 2010). Dit is een embryonale structuur, gelegen langs beide zijden van de neurale buis. Neurale lijstcellen zijn de primaire bron van verschillende structuren en helpen ook bij de vorming van vele structuren. Embryonale melanoblasten worden gevormd vanuit de neurale lijstcellen. Deze melanoblasten zijn kleine, ronde tot ovale cellen die dendritisch worden wanneer ze matureren. Tijdens de embryogenese migreren de pigmentcellen, die nu melanocyten worden genoemd, naar specifieke regio's in het lichaam. Op het hoofd zijn er drie van dergelijke regio's: naast de ogen, oren en bovenop het hoofd. Langsheen beide zijden van het lichaam zijn er zes van deze regio's en er zijn er ook verschillende langsheen de staart. Een paar pigmentcellen migreren naar deze regio's, waar ze prolifereren en verder migreren langs de benen, onder de kin en rond de buik (Thiruvankadan et al., 2008). Melanocyten zijn zeer numeriek aanwezig ter hoogte van de dermo-epidermale overgang (Lerner en Fitzpatrick, 1950; Thiruvankadan et al., 2008). Van daaruit kunnen ze migreren naar de diepe lagen van de epidermis en de haarfollikels. Ze bevinden zich tussen de keratinocyten (Sjastaad et al., 2010; Thiruvankadan et al., 2008).

Wanneer de melanocyten aangekomen zijn in de haarfollikels, beginnen ze daar melanine te produceren dat wordt geïncorporeerd in het groeiende haar (Moellmann et al., 1973; Thiruvankadan et al., 2008).

Mature melanocyten hebben het uitzicht van astrocyten door hun vele uitlopers (Sjastaad et al., 2010). Het type pigment en de vorm van de pigmentgranules bepalen de kleur van het haar. Het voornaamste pigment is melanine (Harkey, 1993). Er bestaan melanocyten die melanine bevatten, maar er bestaan ook melanocyten die geen melanine bevatten (Thiruvankadan et al., 2008). Normaal zijn beide types aanwezig, met uitzondering van albinodieren waar enkel de melanocyten zonder melanine aanwezig zijn (Lerner en Fitzpatrick, 1950; Thiruvankadan et al., 2008). De melanocyten

migreren tot in de bulbus van de haarfollikel, waar ze pigment produceren dat dan wordt geïncorporeerd in de haren tijdens haargroei (Thiruvankadan et al., 2008).

Er kunnen twee verschillende types melanine geproduceerd worden door de melanocyten, namelijk eumelanine en feomelanine (Sjastaad et al., 2010). Eumelanine zorgt voor een zwarte of bruine kleur, terwijl feomelanine een rode en gele kleur veroorzaakt (Castle, 1954; Sjastaad et al., 2010).

Deze beide types melanine worden gevormd door polymerisatie van derivaten van tyrosine (Moellmann et al., 1988; Harkey, 1993; Thiruvankadan et al., 2008; Sjastaad et al., 2010).

Het enzym tyrosinase zet tyrosine om in 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) en vervolgens in dopaquinone (Lerner en Fitzpatrick, 1950; Moellmann et al., 1988; Thiruvankadan et al., 2008). Vervolgens wordt dopaquinone omgezet in dopachrome om eumelanine te vormen. Dopachrome kan ofwel omgevormd worden in 5,6 dihydroxyindole en nadien verder in complexe quinonen door het tyrosinase gerelateerde proteïne 1 (TYRP1), ofwel kan dopachrome omgevormd worden in 5,6 dihydroxyindole-2-carbolaatzuur door dopachrome tautomerase en van daaruit verder in complexe quinonen. Deze complexe quinonen worden dan omgezet in eumelanine. Voor de vorming van feomelanine wordt dopaquinone omgezet in 2-S-cysteïnyldopa en 5-S-cysteïnyldopa, welke worden omgevormd tot feomelanine via verschillende intermediaire producten (Thiruvankadan et al., 2008).

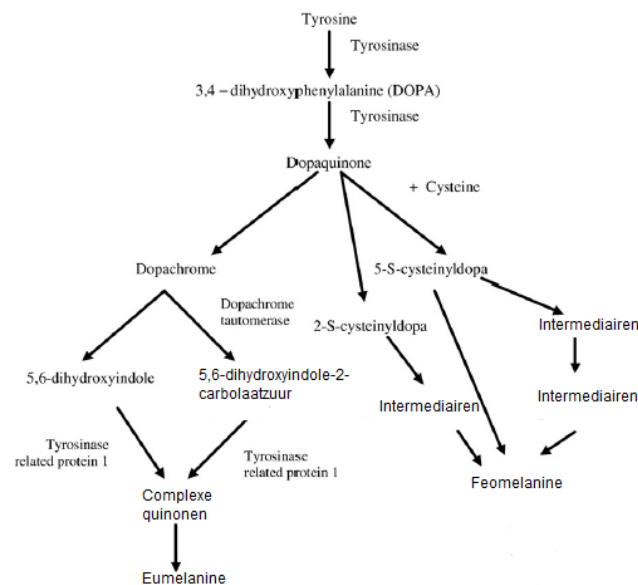


Fig. 2: Biochemische pathway van melaninesynthese
(Naar Thiruvankadan et al., 2008)

Het proces van de biosynthese van melanine pigment door de melanocyten, wordt melanogenese genoemd (Moellmann et al., 1988; Thiruvankadan et al., 2008). Melanocyten bevatten melanosomen, organellen waarin melanine wordt gesynthetiseerd en opgeslagen (Moellmann et al., 1988; Harkey, 1993; Thiruvankadan et al., 2008; Sjastaad et al., 2010).

Er zijn twee soorten melanosomen, namelijk eumelanosomen en feomelanosomen. Melanosomen migreren vanuit het midden naar de zijkant van de melanocyt met behulp van microtubuli (Thiruvankadan et al., 2008).

Melanosomen worden dan vrijgesteld uit de melanocyt door exocytose ter hoogte van de dendritische uitlopers, waarna ze terechtkomen in de omliggende keratinocyten via fagocytose en zo in de haarschacht van het groeiende haar (Okazaki et al., 1976; Moellmann et al., 1988; Thiruvankadan et al., 2008). Eumelanosomen en feomelanosomen zijn initieel identiek, maar eumelanosomen worden ellipsoïdaal met een lamellaire structuur binnenin terwijl feomelanosomen hun sferische vorm behouden en geen lamellen ontwikkelen (Thiruvankadan et al., 2008).

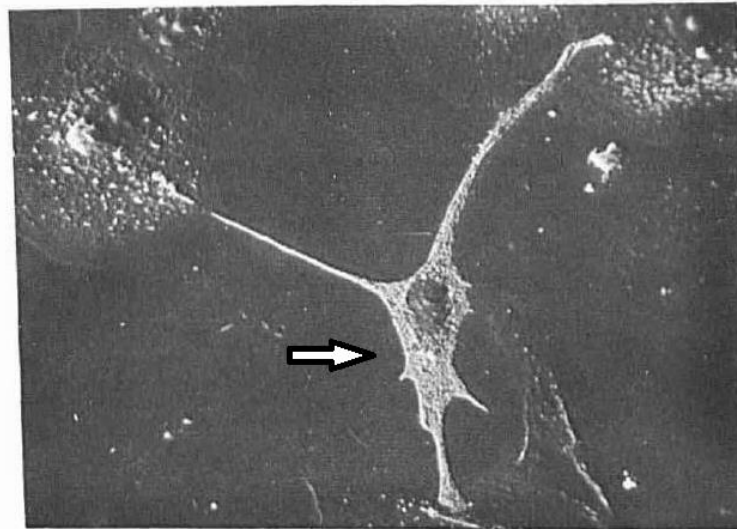


Fig. 3: Een scanning elektronische microscoop opname van een melanocyt (pijl) die contact maakt met omliggende keratinocyten via lange dendritische uitlopers.

(Naar Okazaki et al., 1976)

Het melanocyt-stimulerend hormoon (MSH), geproduceerd door de intermediaire kwab van de hypofyse, speelt een belangrijke rol in de pigmentsynthese in melanocyten. MSH receptoren zijn gelinkt met G-proteïnen en gebruiken cAMP als intracellulaire boodschapper. Er is een verhoogde intracellulaire concentratie van cAMP nodig om zwart pigment te produceren. Daartegenover staat dat wanneer de MSH receptoren niet geactiveerd worden, de melanocyten rood of geel pigment produceren (Sjastaad et al., 2010). Dibutyryl cyclisch AMP (DBcAMP) verhoogt de mate van pigment afgifte van melanocyten aan keratinocyten en verhoogt ook het aantal melanocyten dat pigment afgeeft. Op zijn beurt verhoogt de cAMP fosfodiësterase inhibitor, theofylline, de mate van melanosomenmigratie en verhoogt dus het effect van DBcAMP (Wikswa, 1973).

Er zijn veel mutaties beschreven in de genen die instaan voor pigmentsynthese in de melanocyten. Deze mutaties vormen de basis voor de variatie in pigmentatie bij verschillende dieren (Sjastaad et al., 2010). Er zijn ook verschillende mutaties gekend die de migratie van cellen vanuit de neurale lijst kunnen beïnvloeden. Zo zijn er mutaties die de normale melanogene en enterische neurale lijstcellen aantasten waardoor er witte vlekken kunnen ontstaan die gepaard gaan met andere afwijkingen, zoals

afwezigheid van darmbezuwung. Hier wordt later nog verder op ingegaan (Thiruvankadan et al., 2008).

Genen die inwerken op de melanoblasten, meteen nadat ze de neurale lijst hebben verlaten, kunnen ervoor zorgen dat hun volledige differentiatie in het gedrang komt. Hierdoor ontstaat een witte kleur of kan er een finale lagere concentratie aan melanocyten ontstaan, welk een dilutie effect kan teweegbrengen. Het is echter geweten dat de meeste dilutiegenen hun effect later in de melanogenese uitoefenen. Pigmentgranules bestaan uit melanine dat vastzit aan proteïnen. Als deze proteïnen veranderd worden, kan dit een effect hebben op de vorm van de granules waardoor een andere kleur kan ontstaan (Thiruvankadan et al., 2008).

Er kan dus besloten worden dat er verschillende factoren zijn die een invloed hebben op de vachtkleur van zoogdieren. De melaninegranules zijn belangrijk met hun variabele compositie, aantal en vorm. Deze factoren hangen af van de aanwezigheid van melanocyten in de haren. De aanwezigheid van melanocyten hangt op zijn beurt dan weer af van de migratie vanuit de neurale lijst en de normale ontwikkeling van deze neurale lijst. Het eindresultaat wordt dus beïnvloed door de genenwerking op al deze systemen (Thiruvankadan et al., 2008).

1.3 BASISHAARKLEUREN EN GENEN MET INVLOED OP DE BASISHAARKLEUREN

Er zijn drie basiskleuren bij het paard, namelijk zwart, bruin en vos. Bruin wordt onderverdeeld in bruin en 'bay'. Een 'bay' paard heeft zwarte manen en een zwarte staart, zwarte voeten en benen waarbij de zwarte kleur vaak reikt tot aan de carpus en de tarsus. Het lichaam van een 'bay' paard is roodachtig met variaties van licht tot donker, kersenrood. Het bruine paard wordt soms verward met het 'bay' paard en als het zeer donker is wordt het soms verward met het zwarte paard. Bij het bruine paard zijn ook zwarte manen, staart, voeten en benen aanwezig. Het lichaam heeft een kleur variërend van lichtbruin tot donkerbruin, terwijl de snuit, de regio rond de ogen, de flanken en de lies een lichtere variant van bruin bezitten. Zwarte paarden hebben een volledig zwart lichaam, maar dit kan wel verbleken tot bruin door zonlicht. De kleur vos wordt ingedeeld in drie klassen: leverbos, vos en 'sorrel'. Een vos paard heeft een roodbruine kleur, welke kan variëren van donker chocoladebruin, zoals bij het zwartvos paard en het leverbos paard, tot lichter, goudbruin zoals bij het 'sorrel'paard. De manen en staart van deze paarden hebben dezelfde kleur als het lichaam, of zijn lichter gekleurd tot wit (Gremmel, 1939; Salisbury, 1941; Castle, 1948).

De genetische controle van deze drie kleuren wordt gereguleerd door verschillende genen. Voor de drie basiskleuren geldt dat bruin dominant is over zwart en dat beiden verwezenlijkt worden door genetische systemen die epistatisch werken. Dit betekent dat meerdere genetische systemen bijdragen tot de veruiterlijking van een bepaalde kleur. De kleur vos is recessief aan de twee andere basiskleuren. Buiten de basiskleuren bestaan er onder andere nog verschillende verdunningsfactoren,

veranderlijk schimmelfactoren en bestaat er nog een grijs gen, een dominant wit gen enzovoort (Thiruvankadan et al., 2008). Enkel degene die klinisch relevant zijn, worden nog besproken later in deze literatuurstudie.

1.3.1 Het extensie gen (E)

Het dominante allel (E) breidt de hoeveelheid eumelanine uit en beperkt de hoeveelheid feomelanine in de vacht. Het recessieve allel (e) daarentegen breidt de hoeveelheid feomelanine uit en beperkt de hoeveelheid eumelanine. Of een melanocyt in staat is om eumelanine te produceren hangt af van de aanwezigheid van alfa-melanocyt-stimulerend hormoon (α -MSH) en receptoren hiervoor op de melanocyt. Wanneer α -MSH bindt op de oppervlaktereceptoren, die melanocortine receptor 1 (MC1R) worden genoemd, resulteert dit in een cascade waarbij adenylaat cyclase wordt geactiveerd. Deze activatie stimuleert de melanocyt om eumelanine te produceren omdat er meer tyrosinase wordt geproduceerd. Wanneer dit signaal, dat gecontroleerd wordt door zowel de aanwezigheid van α -MSH als de oppervlaktereceptoren, afwezig is produceren de melanocyten feomelanine omdat er hierdoor een lagere concentratie aan tyrosinase aanwezig is (Thiruvankadan et al., 2008).

Sequentie analyses hebben aangetoond dat een missense mutatie in MC1R geassocieerd is met de kleur vos (ee). Deze dieren produceren geen functionele MC1R waardoor ze een roodgele pigmentatie vertonen door de aanwezigheid van feomelanine (Marklund et al., 1996; Jackson, 1997). Wanneer echter de genotypen EE of Ee aanwezig zijn, resulteert dit in een zwart of bruin paard (Thiruvankadan et al., 2008).

Het extensie gen heeft waarschijnlijk ook een allel dat ervoor zorgt dat zwarte haren worden gemengd in de rode kleur bij sommige 'bay'-gekleurde paarden. Hierdoor wordt er een onderscheid gemaakt tussen 'bay' en bruine paarden. Dit allel, dat verantwoordelijk is voor het zwarte fenotype van deze paarden is waarschijnlijk het dominant zwart allel (E^d) (Castle, 1954; Sponenberg en Weise, 1997).

1.3.2 Het agouti gen (A)

Het agouti gen verzorgt de regionale verspreiding van eumelanine en feomelanine in de vacht. Haren van het wild type agouti bevatten een terminale of sub-terminale band van geel pigment, wat te wijten is aan pigmentgranules met feomelanine. De rest van het haar vertoont een bruine of zwarte kleur door de aanwezigheid van eumelanine. Binnenin eenzelfde haar kan er een omschakeling optreden van het ene naar de andere pigment. Het agouti gen zorgt voor de vorming van een proteïne, het agouti-signaliserend proteïne (ASIP), dat de actie van α -MSH op melanocyten teniet doet. Op plaatsen waar dit proteïne aanwezig is, kunnen melanocyten dus niet reageren op α -MSH waardoor ze feomelanine vormen. Op plaatsen waar dit proteïne niet aanwezig is kunnen de melanocyten wel reageren op α -MSH waardoor ze eumelanine vormen.

Bij paarden is het agoutipatroon zelf niet aanwezig, maar zijn de allelen van het agouti gen verantwoordelijk voor een bruine dan wel zwarte kleur. Het genotype aa enerzijds resulteert in een zwarte kleur omdat er geen restrictie van eumelanine optreedt. Deze zwarte kleur, welke veroorzaakt wordt door een homozygoot recessief agouti genotype, wordt recessief zwart genoemd. De genotypen AA en Aa anderzijds produceren bruine paarden (Rieder et al., 2001; Thiruvankadan et al., 2008).

Er moet wel opgemerkt worden dat een dominant allel van het extensie gen nodig is om de agouti allelen tot expressie te brengen. Het genotype ee resulteert namelijk steeds in vos onafhankelijk van de aanwezige allelen van het agouti gen (Sponenberg en Weise, 1997; Rieder et al., 2001; Thiruvankadan et al., 2008).

1.3.3 Het albino gen (C)

Het albino gen controleert de intensiteit van de pigmentatie. De allelen van dit gen variëren van volledig dominant (C) tot volledig recessief (c), waarbij de hoeveelheid pigment steeds afneemt. Wanneer de volledig recessieve allelen aanwezig zijn, treedt albinisme op. Hierbij is er een compleet gebrek aan melanine waardoor de haren wit zijn en de ogen en huid roze. Het albino gen codeert voor het enzym tyrosinase, dat essentieel is voor de melanogenese. Recessieve allelen vormen abnormale tyrosinasen waardoor ofwel de activiteit van tyrosinase verminderd is ofwel helemaal afwezig is. Dit resulteert in melanocyten die minder of niet in staat zijn tot melanogenese (Castle, 1948; Castle, 1954; Thiruvankadan et al., 2008).

1.3.4 Het bruin gen (B)

Het bruin gen staat in voor de productie van het tyrosinase-gerelateerd proteïne 1 (TYRP1). Het dominante allel (B) veroorzaakt een zwarte kleur, maar enkel wanneer er ook homozygote recessiviteit voor het agouti gen aanwezig is. Verlaagde concentraties aan TYRP1 werden gevonden bij grijze paarden en men denkt ook dat TYRP1 betrokken is bij de synthese van een intermediair chocoladebruin melanine, dat aanwezig is bij donkere vospaarden, lefvos paarden en bruine paarden. Deze paarden hebben dan bb als genotype. TYRP1 oefent enkel een invloed uit op eumelanine, maar toch hadden alle bestudeerde paarden met dit chocoladebruin melanine een vos achtergrond en dus feomelanine. Hierdoor moet er nog een ander gen betrokken zijn in de veruiterlijking van deze chocoladebruine fenotypes tezamen met MC1R (Castle 1948; Rieder et al., 2001).

Samenvattend kan het volgende besloten worden:

Tabel 1: Genotypen van de basishaarkleuren

ZWART	BRUIN	VOS
C.aaBBEE	C.AABBEE	C.AAbbee
C.aaBBEe	C.AABBee	C.Aabbee
C.aaBBE ^d E	C.AaBBEe	C.aabbee
C.aaBBE ^d e	C.AABbEE	
C.aaBBE ^d E ^d	C.AABbEe	
C.aaBbEE	C.AaBbEE	
C.aaBbEe	C.AaBbEe	
C.aaBbE ^d E		
C.aaBbE ^d e		
C.aaBbE ^d E ^d (dominant zwart)		

(naar Castle, 1948; Castle, 1954; Marklund et al. 1996; Jackson, 1997; Sponenberg en Weise, 1997; Rieder et al., 2001; Thiruvankadan et al., 2008)

2. ERFELIJKE AANDOENINGEN GEASSOCIEERD MET HAAR- EN VACHTKLEUREN BIJ HET PAARD

2.1 MULTIPLE CONGENITAL OCULAR ANOMALIES

2.1.1 Het zilver gen

De vachtkleur zilver bij paarden wordt gekarakteriseerd door een dilutie van het zwarte pigment, dus van eumelanine in de haren. Er is maar weinig tot geen effect van deze dilutie op feomelanine. Dit fenotype wordt autosomaal dominant overgeërfd. Het effect van de mutatie is het best zichtbaar in de lange haren van de manen en staart. Deze worden verdund tot een mix van witte en grijze haren.

Een zwart zilver paard vertoont een fenotype dat bestaat uit een licht verdunde lichaamskleur, vaak met appeltjes en blinkende witte of vlaskleurige manen en staart. Een bruin paard zal geen invloed ondervinden van het zilver gen op zijn lichaam, de benen zullen echter wel veranderen van zwart naar donkergrijs en de manen en staart vertonen ook een mix van witte en grijze haren. Zilver veulens zijn heel bleek op hun lichaam en hebben witte manen en een witte staart. Vaak vertonen ze ook karakteristieke gestreepte hoeven en witte wimpers. Paarden die homozygoot zijn voor het zilver gen vertonen een meer uitgesproken verdund haarkleed dan paarden die heterozygoot zijn. Een vos paard vertoont geen duidelijke fenotypische effecten van de zilver mutatie (Brunberg et al., 2006; Bellone, 2010).



Fig. 4: Een gestreepte hoef van een Zilver gekleurde IJslandse pony.

(Naar Brunberg et al., 2006)



Fig. 5: Een zilver gekleurd paard.

(Naar Bellone, 2010)

Het zilver gen is relatief vaak aanwezig bij IJslandse Pony's, Amerikaanse Miniatuurpaarden en het Rocky Mountain Paard. Maar ook bij de Ardenner, het Morgan Paard, het Amerikaanse Paint Paard, de Quarter, de Amerikaanse 'Saddlebred', de Shetlandpony, de Noorse Noorderlander, de Welsh Pony, Arabische en Zweedse Warmbloeden komt zilver voor. Rassen die nauw verwant zijn met bovengenoemde rassen kunnen ook zilver vertonen (Brunberg et al., 2006; Bellone, 2010).

2.1.2 Pathogenese

DNA sequencing van *PMEL17* bij zilver en niet-zilver paarden onthulde een missense mutatie in exon 11, waardoor het tweede aminozuur in de cytoplasmatische regio verandert van arginine naar cysteïne. Deze mutatie werd volledig geassocieerd met het zilver fenotype bij verschillende paardenrassen en deze werd niet gevonden bij niet-zilver paarden (Brunberg et al., 2006; Andersson et al., 2013).

Het gen *PMEL17* codeert voor een transmembraan proteïne, genaamd pre-melanosomaal proteïne 17 (*PMEL17*). Dit proteïne is betrokken bij de productie van eumelanine en is aanwezig in melanosomen. *PMEL17* vormt onder meer niet-pathologische amyloid fibrillen (Brunberg et al., 2006; Watt et al., 2011).

Het voorkomen van *PMEL17* mutaties is zeldzaam. Mogelijke verklaringen hiervoor zijn dat de mutatie geen effect zou hebben op de pigmentatie en daardoor niet opgemerkt wordt of dat de mutaties letaal

zijn. Dit laatste zou betekenen dat PMEL17 ook een functie uitoefent buiten de melanosomen omdat pigmentatie op zich niet cruciaal is om te overleven (Brunberg et al., 2006; Bellone, 2010).

Oogafwijkingen veroorzaakt door Anterior Segment Dysgenesis (ASD) komen veel vaker voor bij Rocky Mountain paarden die het zilver gen bezitten dan bij zij die dit gen niet bezitten (Ramsey et al., 1999). De symptomen variëren van minimale tot ernstige letsels van het voorste gedeelte van het oog. Multipiele congenitale oculaire abnormaliteiten kunnen zich uiten als grote cysten die ontstaan vanuit het ciliaire lichaam of de perifere retina. Ook afwijkingen van de cornea, iris, lens en iridocorneale hoek kunnen gezien worden (Ewart et al., 2000; Bellone, 2010; Andersson et al., 2013).

Deze afwijkingen kunnen dus zowel in het voorste als achterste gedeelte van het oog voorkomen en zijn niet gelimiteerd tot Rocky Mountain Paarden, maar kunnen ook aanwezig zijn bij IJslandse Pony's, Shetlandpony's, Exmoor Pony's, Amerikaanse Miniatuurpaarden, Belgische Trekpaarden en Morgan Paarden. Ook bij Kentucky Mountain Saddle Paarden en Mountain Pleasure Paarden, allebei sterk verwant met de Rocky Mountain Paarden, komen deze afwijkingen voor (Andersson et al., 2013).

Men vermoedt dat paarden die homozygoot zijn voor de zilver gen mutatie meer ernstige symptomen vertonen dan paarden die heterozygoot zijn voor deze mutatie. Dit suggereert een intermediaire (partieel dominante) overerving van het zilver gen (Ewart et al., 2000; Brunberg et al., 2006; Bellone, 2010; Andersson et al., 2013).

Onvolledige penetratie van deze afwijking maakt het ook moeilijker deze te onderkennen. Zo vertonen bepaalde individuen die de mutatie hebben geen fenotypische symptomen of zijn deze symptomen te mild om te onderkennen (Bellone, 2010).

2.1.3 Fokadvies

Selectief fokken voor de zilver vachtkleur heeft tegelijk de frequentie van multipiele congenitale oculaire abnormaliteiten doen toenemen.

Het is van belang om vooral paarden met een vos haarkleed moleculair te testen op de zilver mutatie. Bij deze paarden is er fenotypisch namelijk geen afwijkende kleur te zien en kan men zich hierop dus niet baseren om te besluiten dat het zilver gen al dan niet aanwezig is.

Het fokadvies luidt om zilver paarden niet met elkaar te kruisen. Dit zal het risico op fenotypische uiting van multipiele congenitale oculaire abnormaliteiten doen afnemen (Andersson et al., 2013).

2.2 LAVENDER FOAL SYNDROME

2.2.1 Het lavendel gen

Het lavendel gen veroorzaakt een dilutie van de haarkleur tot een lavendel-achtige kleur. De vachtkleur kan variëren van lichtgrijs tot licht vos. De verantwoordelijke mutatie wordt recessief overgeërfd. Deze deletie zou de functie van mature melanocyten ondermijnen. De melanosomen verplaatsen zich niet naar de periferie van de melanocyt waardoor ze ook niet kunnen overgebracht worden naar de keratinocyten. Enkel bij homozygoot recessieve paarden voor dit lavendel gen wordt

de dilutie van pigment waargenomen, dus niet bij heterozygoten. Dit lavendel gen komt enkel voor bij Arabische paarden van Egyptische afstammelingen (Fanelli, 2005; Bellone, 2010; Brooks et al., 2010).

2.2.2 Pathogenese

Het 'Lavender Foal Syndrome' (LFS), of 'Coat Colour Dilution Lethal' (CCDL) is geassocieerd met homozygoot recessieve veulens voor het lavendel gen. Deze aandoening is letaal. Lavendel gekleurde Arabische veulens sterven kort na de geboorte. Hierbij vertonen de veulens neurologische symptomen zoals tetanie, opisthotonus, nystagmus en fietsbewegingen van de benen (Fanelli, 2005; Bellone, 2010; Brooks et al., 2010). Tussen episodes van deze symptomen zijn de veulens ook nooit normaal. De veulens kunnen niet rechtstaan en meestal ook niet in sternale positie liggen. De zuigreflex is meestal wel aanwezig. Deze symptomen treden op kort na de geboorte, waarschijnlijk getriggerd doordat het veulen probeert recht te staan. In utero worden geen abnormaliteiten waargenomen, evenmin wordt er abnormaal discomfort van de merrie tijdens de laatste periode van de dracht waargenomen (Fanelli, 2005). De symptomen bij LFS moeten onderscheiden worden van onder andere neonatale septicemie en neonatale encefalopathie. (Fanelli, 2005; Brooks et al., 2010).



Fig. 6: Een vos-lavendel gekleurd Egyptisch Arabisch hengstenveulen met fietsbewegingen (zwarte pijl).

(Naar Fanelli, 2005)

De genetische mutatie die aan de basis ligt van deze aandoening is aanwezig in het myosin VA (*MYO5A*) gen. In dit gen werd een enkelvoudige basedeletie in exon 30 gevonden die ervan verdacht wordt een prematuur stopcodon te vormen. Door de vorming van dit prematuur stopcodon wordt het intracellulaire transport ondermijnd. Hierdoor kunnen enerzijds, zoals hierboven reeds vermeld, melanosomen niet getransporteerd worden naar de periferie van de melanocyten. Anderzijds gaan hierdoor in zenuwcellen glutamaatreceptoren en secretorische granules niet correct worden getransporteerd waardoor er neurologische symptomen optreden. (Bellone, 2010; Brooks et al., 2010).

Bij het bestuderen van stambomen werd steeds een gemeenschappelijke voorouder waargenomen bij aangetaste veulens. Deze voorouder kan voor een stichterseffect hebben gezorgd. Er werden echter ook veulens met LFS waargenomen waarbij deze voorouder niet aanwezig was. Dit wijst er op dat de eigenlijke stichter nog veel vroeger optrad in de stamboom (Brooks et al., 2010).

Bij heterozygoten wordt er geen dilutie van pigment waargenomen, maar kunnen er wel milde epileptische aanvallen plaatsvinden die niet dodelijk zijn (Fanelli, 2005; Bellone, 2010; Brooks et al., 2010). Hierbij kunnen perioden optreden waarin de veulens cirkelgang vertonen, rillen en op hun tanden bijten met gesloten kaken. Tussen deze episoden zijn de veulens normaal. Doordat heterozygoten ook milde symptomen vertonen wordt verondersteld dat de overerving complexer is dan gewoon recessief (Fanelli, 2005).

2.2.3 Fokadvies

Om de verspreiding van deze aandoening tegen te gaan, kan men best niet fokken met dragermerries en –hengsten van het lavendel allel (Fanelli, 2005; Brooks et al., 2010). De frequentie van dragers wordt bij het Egyptische Arabische ras op 10,3% geschat (Brooks et al., 2010). Vermits Arabische paarden vaak gebruikt werden om de moderne lichte paardenrassen te ontwikkelen, is het mogelijk dat het LFS allel ook aanwezig is in deze rassen

2.3 MELANOMEN

2.3.1 Het grijs gen

De kleur grijs veroorzaakt een progressief fenotype van de vachtkleur. Grijs paarden krijgen progressief meer witte haren doorheen de jaren. De intensiteit en plaats waar deze grijze haren zich eerst beginnen vormen, alsook het patroon waarin ze verspreiden over het hele lichaam, is verschillend van individu tot individu (Castle, 1947; Pielberg, 2008; Thiruvenkadan et al., 2008; Bellone, 2010). Sommige paarden worden eerst grijs in de manen en staart, terwijl andere paarden het langst pigment behouden in de manen en staart. Er zijn ook paarden die kleine haarden van pigment blijven behouden, 'flea-bitten' genaamd, terwijl weer anderen grotere haarden van pigment vertonen, afgelijnd met gedepigmenteerde zones, welke 'appels' worden genoemd. Ook kan het zijn dat paarden vitiligo, ofwel depigmentatie van de huid ontwikkelen in combinatie met depigmentatie van de haren. Grijs paarden komen voor in vele rassen, maar grijs is de dominante kleur in rassen zoals Lipizzaners en Andalusiërs (Bellone, 2010). Grijs is epistatisch over alle andere vachtkleuren wat betekent dat een paard dat een grijs allel erft, steeds uiteindelijk pigment gaat verliezen waardoor de oorspronkelijke haarkleur wordt gemaskeerd door grijs (Castle, 1948; Rieder et al., 2001; Pielberg et al., 2008; Thiruvenkadan et al., 2008; Henner et al., 2002; Bellone, 2010). Grijs is dus ook dominant, wat betekent dat er maar één grijs allel aanwezig moet zijn om deze kleur tot veruiterlijking te brengen (Castle, 1948; Rieder et al., 2000; Henner et al., 2002; Thiruvenkadan et al., 2008; Bellone, 2010; Curik et al., 2013). Grijs is samen met de basiskleuren vos, bruin en zwart de meest voorkomende vachtkleur bij paarden over de hele wereld (Henner et al., 2002). Een grijs paard wordt altijd gekleurd geboren en gaat dan progressief grijze haren verkrijgen. De huid blijft wel gepigmenteerd met uitzondering van witte hoofd- en benenaftekeningen en vitiligo (Henner et al., 2002; Pielberg et al., 2008; Thiruvenkadan et al., 2008; Curik et al., 2013).



Fig. 7: Vitiligo rond de mond bij een Grijs paard.

(Naar Curik et al., 2013)

2.3.2 Pathogenese

Ongeveer 80% van de paarden met een grijze vachtkleur ontwikkelt melanomen. Het grootste deel hiervan is 15 jaar of ouder (Valentine, 1995; Fleury et al., 2000; Seltenhammer et al., 2003; Pielberg et al., 2008; Thiruvankadan et al., 2008; Bellone, 2010; Curik et al., 2013; Seltenhammer et al., 2013). Zelden komen melanomen bij jonge paarden voor of zelfs congenitaal (Fleury et al., 2000; Seltenhammer et al., 2003). Deze grijze kleur en deze melanomen worden veroorzaakt door een 4.6kb duplicatie van intron 6 van het syntaxine 17 (*STX17*) gen (Pielberg et al., 2008; Thiruvankadan et al., 2008; Bellone, 2010). Er wordt vermoed dat deze duplicatie een regulatorische mutatie is, die zich gedraagt als een cis-vorm. Deze mutatie gaat *STX17* en kernreceptor subfamilie 4, groep A, lid 3 (*NR4A3*) op reguleren. Deze op regulatie wordt ervan verdacht melanocytenproliferatie te promoten. Dit leidt in dermale melanocyten tot een predispositie voor het ontstaan van melanomen, terwijl het in haarfollikelmelanocyten leidt tot een hyperproliferatie en daardoor een depletie van stamcellen. Dit laatste veroorzaakt de vergrijzing van de haren wanneer er nieuwe haren worden gevormd en oude worden losgelaten (Pielberg et al., 2008; Bellone, 2010; Curik et al., 2013; Seltenhammer et al., 2013).

Meestal uiten melanomen zich bij paarden als zwart-gepigmenteerde nodules in de dermis of als haarloze huid. Predisponerende regio's zijn de staartbasis, de perianale regio, de genitale regio en rondom de lippen en oogleden (Valentine, 1995; Fleury et al., 2000; Seltenhammer et al., 2003; Pielberg et al., 2008; Thiruvankadan et al., 2008; Bellone, 2010; Curik et al., 2013; Seltenhammer et al., 2013). Melanomen kunnen echter ook op andere plaatsen voorkomen (Bellone, 2010; Seltenhammer et al., 2013).



Fig. 8: Een melanoom ter hoogte van de staartbasis bij een Grijs paard.
(Naar Curik et al., 2013)

Er werden geen duidelijke geslachtsverschillen gemerkt wat het voorkomen van melanomen betreft. Melanomen worden beschreven als traag groeiende, lokaal invasieve tumoren, maar er komen redelijk frequent metastasen voor (Valentine, 1995; Fleury et al., 2000; Seltenhammer, 2003; Seltenhammer, 2013). Deze metastasen kunnen ontstaan vanuit een goedaardige tumor die ontaard is of vanuit tumoren die van bij het begin al maligne waren (Curik et al., 2013). Echter, melanomen bij grijze paarden zijn minder maligne dan huidtumoren bij volledig gepigmenteerde paarden. Metastasen komen het vaakst voor in de lymfeknopen, de lever, de milt, de skeletspieren, de longen en in of rond bloedvaten bij grijze paarden. Genetische mechanismen achter de vorming van metastasen zijn niet bekend, hoewel het voorkomen van melanomen bij grijze paarden wel hoger ligt wanneer deze paarden ook een mutatie van het agouti signaling proteïne (ASIP) hebben, welke een verlies van functie van ASIP veroorzaakt. ASIP is een antagonist van de melanocortine 1 receptor (MC1R) en is betrokken bij de omzetting van eumelanine naar feomelanine. Hierdoor kan worden afgeleid dat een verhoogde MC1R werking de ontwikkeling van melanomen in de hand werkt (Pielberg, 2008; Bellone, 2010; Curik et al., 2013; Seltenhammer et al., 2013).

2.3.3 Fokadvies

Er zijn waarschijnlijk veel factoren betrokken bij de patronen van vergrijzing en het voorkomen van melanomen, maar men vermoedt dat deze variatie voor een groot deel te wijten is aan een incomplete dominante overerving van het grijs gen. Paarden die homozygoot zijn voor de grijze kleur worden sneller grijs, vertonen meer depigmentatie van de huid, hebben minder pigmentatiezones in de vacht en vertonen een hogere incidentie van melanomen. Het bekomen van een homozygoot paard voor de grijze kleur kan alleen door het fokken van grijze paarden met elkaar. Dit kan men dus beter niet doen indien men het voorkomen van melanomen wil inperken (Pielberg, 2008; Bellone, 2010; Curik et al., 2013).

2.4 DOMINANT WIT

2.4.1 Het dominant wit gen

Dominant wit (*W*) veroorzaakt een wit haarkleed door een dominant gen. Dit gen is epistatisch over alle andere kleuren. In homozygote toestand is het *W* allel letaal. Dit betekent dat alle paarden die dominant wit vertonen, heterozygoot zijn. Deze heterozygote witte paarden hebben geen pigment in de huid en haren en vertonen dus een roze huid, witte vacht, witte manen, staart en hoeven. De ogen zijn meestal donkerbruin (Castle, 1948, 1954; Haase et al., 2007; Thiruvankadan et al., 2008; Haase et al., 2009; Rieder, 2009). Dit fenotype uit zich reeds vanaf de geboorte, in tegenstelling tot de depigmentatie die plaatsvindt over jaren bij paarden met het grijs gen (Haase et al., 2007).



Fig. 9: Een dominant witte Arabische hengst.

(Naar Haase et al., 2007)

2.4.2 Pathogenese

Het tyrosinase kinase receptor gen (*KIT*) is betrokken bij melanogenese, hematopoïese en gametogenese. Het *KIT* gen fungeert als een essentiële factor om de overleving van migrerende en prolifererende melanoblasten te garanderen (Haase et al., 2007; Thiruvankadan et al., 2008; Haase et al., 2009). Sequentie analyse van het *KIT* gen heeft een enkelvoudig nucleotide polymorfisme aangetoond in *KIT* intron 3, welk geassocieerd wordt met het witte fenotype bij paarden (Thiruvankadan et al., 2008). Varianten in dit *KIT* gen zijn niet alleen verantwoordelijk voor het volledige witte haarkleed van dominant wit, maar ook voor een haarkleed met witte zones. Zo is dit *KIT* gen ook verantwoordelijk voor sabino, tobiano en rouaan allelen. Deze paarden vertonen immers witte zones in hun haarkleed (Haase et al., 2007, 2009; Rieder, 2009; Hauswirth et al., 2013; Haase et al., 2015). Paarden die heterozygoot zijn voor de sabino mutatie hebben intense witte plekken op hun benen en hoofd, gecombineerd met witte plekken op hun lichaam en rouaan zones. Paarden die heterozygoot zijn voor de sabino mutatie zijn bijna volledig wit. Paarden die homozygoot of heterozygoot zijn voor de tobiano mutatie vertonen witte onderbenen en witte plekken op hun lichaam rondom de rug, terwijl het rouaan fenotype zich uit met witte en gepigmenteerde haren door elkaar.

Doordat het KIT gen betrokken is in verschillende processen in het lichaam, kan verklaard worden dat mutaties van dit gen frequent pleiotrope effecten veroorzaken (Haase et al., 2009; Rieder, 2009).

2.4.3 Fokadvies

Zoals reeds hierboven vermeld werd, is het dominant wit gen in homozygote toestand letaal. De foetus sterft reeds in de uterus. Dit kan al vroeg in de dracht optreden. Ook het dominante rouaan allel is letaal in homozygote toestand en ook hier sterft de foetus reeds in de uterus. Men kan dus best geen dominant witte paarden met elkaar kruisen opdat men geen homozygote veulens zou bekomen (Haase et al., 2007; Thiruvankadan et al., 2008; Rieder, 2009). Het 'lethal white foal syndrome' veroorzaakt ook sterfte van overo homozygoten. Maar hier treedt de sterfte pas enkele dagen na de geboorte op (Thiruvankadan et al., 2008; Rieder, 2009).

2.5 ROUAAN

2.5.1 Het rouaan gen

De vachtkleur 'rouaan' wordt gecontroleerd door een dominant allel. In homozygote toestand is het rouaan allel letaal (Marklund et al., 1999; Thiruvankadan et al., 2008). Paarden met een rouaan fenotype vertonen witte en gepigmenteerde haren door elkaar op het lichaam. De gepigmenteerde haren bevatten één van de drie basiskleuren: vos, bruin of zwart (Thiruvankadan et al., 2008; Haase et al., 2009; Rieder, 2009). Het hoofd vertoont meestal enkel de gepigmenteerde kleur (Rieder, 2009). Ook de manen, staart en onderbenen zijn volledig gepigmenteerd. In tegenstelling tot de grijze vachtkleur, is het rouaan fenotype niet progressief waardoor er geen geleidelijke ontkleuring van de haren gaat optreden (Thiruvankadan et al., 2008).



Fig. 10: Een vos rouaan paard.

(Naar Rieder, 2009)

Het rouaan fenotype komt voor bij Quarter Horses, Welsh Pony's, Miniatuurpaarden en Belgische Trekpaarden. Bij Volbloeden komt dit fenotype niet voor (Thiruvankadan et al., 2008).

2.5.2 Pathogenese

Rouaan ontstaat door een variatie in het KIT gen (zie dominant wit) (Marklund et al., 1999).

2.5.3 Fokadvies

Net als bij het dominant wit gen, sterft een homozygoot dominant veulen voor het rouaan gen reeds in de uterus. Men kan dus best geen paarden met een rouaan fenotype met elkaar kruisen opdat er geen homozygoten zouden ontstaan waarbij er embryonale sterfte of abortus optreedt (Haase et al., 2007; Thiruvankadan et al., 2008; Rieder, 2009).

2.6 LETHAL WHITE FOAL SYNDROME

2.6.1 Het overo gen

Het overo gen veroorzaakt witte vlekken op het haarkleed van een paard. Deze witte vlekken bevinden zich meestal in het midden van beide flanken, op de nek en ventraal op het lichaam. Meestal overschrijden de witte vlekken de dorsale middenlijn niet. De grootte en hoeveelheid van deze witte vlekken varieert van individu tot individu. Overo paarden hebben vaak een partiële gedepigmenteerde iris. Hierdoor heeft het paard blauwe of gedeeltelijke blauwe ogen (Metallinos et al., 1998; Santschi et al., 1998; Thiruvankadan et al., 2008; Rieder, 2009; Bellone, 2010).



Fig. 11: Een vos-overo Paint Horse

(Naar Metallinos et al., 1998)

2.6.2 Pathogenese

Het overo allel wordt dominant overgeërfd (Metallinos et al., 1998; Santschi et al., 1998; Yang et al., 1998; Thiruvankadan et al., 2008; Bellone, 2010). Alle overo paarden zijn heterozygoot voor dit allel. Homozygote individuen lijden aan het 'lethal white foal syndrome' (LWFS). Veulens met dit syndroom worden geboren met een volledig witte of bijna volledig witte vacht. Deze veulens hebben ook een intestinale aganglionose, wat betekent dat de enterische ganglioncellen afwezig zijn. Doordat de

darmen niet normaal geïnnerveerd worden, ontwikkelt het veulen een intestinale obstructie binnen de 24 uur na de geboorte. Door deze obstructie sterven de veulens snel (McCabe et al., 1990; Metallinos et al., 1998; Santschi et al., 1998; Yang et al., 1998; Thiruvankadan et al., 2008; Rieder, 2009; Bellone, 2010).

De obstructies worden vooral aangetroffen in de dikke darm. Myenterische ganglia zijn afwezig in het laatste deel van het ileum, in het cecum en in het colon, terwijl deze wel aanwezig zijn in de maag en in het proximale deel van de dunne darmen (McCabe et al., 1990; Metallinos et al., 1998). De mutatie die verantwoordelijk is voor het overo fenotype en LWFS, is er een van de endotheline signalisatie pathway. Een dinucleotide missense mutatie in exon 1 van het endotheline B receptor gen (*EDNRB*) werd geïdentificeerd als oorzaak. Deze mutatie resulteert in een enkelvoudige aminozuur substitutie van isoleucine naar lysine. Enterische ganglia zijn, net zoals melanocyten, afkomstig van de neurale kam. Endotheline signalisatie is belangrijk voor de proliferatie, migratie en differentiatie van beide celtypes. Melanocyten en enterische ganglia migreren via twee verschillende pathways vanuit de neurale kam. Voorlopercellen van enterische ganglia migreren via een dorso-ventrale pathway, terwijl melanoblasten via een dorso-laterale pathway migreren. Doordat deze pathways op verschillende momenten plaatsvinden, oefent de endotheline signalisatie verschillende effecten uit op deze celtypes (Metallinos et al., 1998; Santschi et al., 1998; Yang et al., 1998; Pla en Larue, 2003; Rieder, 2009; Bellone, 2010). Zo gaat bijvoorbeeld een heterozygote toestand niet voldoende zijn om de enterische ganglia aan te tasten, maar is deze wel voldoende om een vermindering van het aantal melanocyten te bekomen (Yang et al., 1998).

Voordat men de mutatie voor LWFS had geïdentificeerd, werd doofheid al geassocieerd met deze aandoening. Na onderzoek werd ook aangetoond dat bijna alle veulens die ervan verdacht werden doof te zijn, de *EDNRB* mutatie hadden. Deze associatie suggereert dat *EDNRB* een rol speelt in het doof zijn van veulens, hoewel ook andere genen lijken betrokken te zijn (Metallinos et al., 1998; Bellone, 2010). Hoewel de functie van melanocyten in het oor nog niet volledig geweten is, is er reeds aangetoond dat melanocyten nodig zijn om de integriteit van de stria vascularis en de functie van de endocochlea te behouden (Pla en Larue, 2003).

2.6.2 Fokadvies

Paint Horses kunnen getest worden op dragerschap van het overo allel. Bij het kruisen van twee heterozygoten kan aangenomen worden dat één vierde van de nakomelingen LWFS heeft, dat de helft van de nakomelingen overo is en dat het laatste vierde normaal gepigmenteerd is. Paarden met tobiano aftekeningen worden ook soms geïdentificeerd als zijnde dragers van het overo gen, namelijk tobiano Paint Horses, Quarter Horses en volbloeden. Het overo haarkleed komt hierbij niet tot uiting omdat tobiano epistatisch is aan overo. Hierdoor kan men paarden best testen op aanwezigheid voor het mutante *EDNRB* opdat men geen heterozygoten onderling zou kruisen en zo kans zou hebben op een veulen met LWFS (Metallinos et al., 1998; Santschi et al., 1998).

2.7 CONGENITALE STATIONAIRE NACHTBLINDHEID

2.7.1 Het luipaard gen

De vachtkleur luipaard of appaloosa wordt gekenmerkt door witte zones in de vacht die symmetrisch zijn en zich vaak centraal over de heupen bevinden. De uitgebreidheid van de witte zones verschilt tussen individuen. De term 'luipaard' is afkomstig van een bepaald patroon waarin de witte zones zich kunnen bevinden. Hierbij bevinden zich ronde zones van pigment in de niet-gepigmenteerde zones die in dit geval over zo goed als het hele lichaam verspreid zijn (Terry et al., 2004; Bellone et al., 2008; Bellone, 2010; Bellone et al., 2010; Sandmeyer et al., 2012; Bellone et al., 2013; Holl et al., 2016). De verschillende patronen kunnen, van licht naar donker, zijn: few-spot luipaard, luipaard, 'snowcap blanket', 'blanket with spots', 'varnish roan', 'snowflake', 'frosted', 'speckled' en 'mottled' (Sandmeyer et al., 2007). Luipaard is ook geassocieerd met andere kenmerken zoals gestreepte hoeven, duidelijk niet-gepigmenteerde sclera rond de ogen, gespikkelde pigmentatie rond de anus, genitaliën en mond en een luipaard-specifieke rouaan kleur. Paarden die homozygoot zijn voor het luipaard allel hebben minder gepigmenteerde zones in de witte zones dan paarden die heterozygoot zijn (Terry et al., 2004; Sandmeyer et al., 2007; Bellone et al., 2008; Bellone, 2010; Bellone et al., 2010; Sandmeyer et al., 2012; Bellone et al., 2013; Holl et al., 2016). De vachtkleur luipaard komt in vele rassen voor, namelijk bij de Appaloosa, Knabstruper, Noriker, Amerikaanse Pony, Amerikaanse Miniatuur, British Spotted Pony, Australian Spotted Pony en andere rassen (Sandmeyer et al., 2007; Bellone, 2010; Bellone et al., 2010; Sandmeyer et al., 2012; Bellone et al., 2013).



Fig. 12: Een 'blanket with spots' appaloosa paard

(Naar Bellone et al., 2008)



Fig. 13: Een appaloosa veulen met een luipaard patroon

(Naar Bellone et al., 2008)

2.7.2 Pathogenese

Congenitale stationaire nachtblindheid (CSNB) is geassocieerd met homozygotie voor het luipaard allel bij de Appaloosa. Bij de andere rassen waar het luipaard gen voorkomt, werd nog niet aangetoond dat homozygotie geassocieerd is met CSNB (Terry et al., 2004; Sandmeyer et al., 2007; Bellone et al., 2008; Bellone, 2010; Bellone et al., 2010, 2013; Holl et al., 2016). Enkel bij het Miniatuurpaard werd, net zoals bij de Appaloosa, het luipaard allel in homozygote toestand geassocieerd met CSNB (Sandmeyer et al., 2012). Luipaard wordt incompleet dominant overgeërfd (Terry et al., 2004; Sandmeyer et al., 2007; Bellone et al., 2008; Bellone, 2010; Bellone et al., 2010; Sandmeyer et al., 2012; Bellone et al., 2013; Holl et al., 2016). Het transiënt receptor potentiaal kation (vooral calcium) kanaal, subfamilie M, 1 gen (*TRPM1*) werd aangetoond als oorzaak van de luipaard vachtkleur. Dit gen is gelegen op het paarden chromosoom 1 (ECA1). De precieze mutatie is nog niet gekend en ook de rol van *TRPM1* in de pigmentproductie is nog niet volledig gekend, maar men heeft aangetoond dat *TRPM1* gedownreguleerd is in sterk metastatische melanoma cellen, wat doet vermoeden dat het proteïne van dit gen een belangrijke rol speelt in de normale melanogenese. Bij mensen is aangetoond dat de *TRPM1* expressie direct gecorreleerd is met de melanineconcentratie, waardoor een rol in de opslag van melanine kan vermoed worden voor *TRPM1* (Terry et al., 2004; Bellone et al., 2008; Bellone, 2010; Bellone et al., 2010; Sandmeyer et al., 2012; Bellone et al., 2013; Holl et al., 2016). Er is aangetoond dat de *TRPM1* transcriptie verstoord wordt door een premature poly-adenylatie (Bellone et al., 2013; Holl et al., 2016).

CSNB wordt gekarakteriseerd door een congenitaal, niet-progressief zichtdefect. Aangetaste paarden vertonen soms een bilaterale dorso-mediale strabismus en nystagmus. De diagnose van CSNB kan gesteld worden door een elektroretinografie (ERG) (Sandmeyer et al., 2007; Bellone et al., 2008; Bellone, 2010; Sandmeyer et al., 2012; Bellone et al., 2013). Bij CSNB is er een negatieve elektroretinografie, welke indicatief is voor een defect in de depolarisatie van de ON bipolaire cellen. Deze cellen zijn net zoals de staafjes betrokken bij het nachtzicht. De synaps tussen de ON bipolaire cel en de fotoreceptor (staafje) veroorzaakt een depolarisatie waardoor glutamaat bindt aan zijn receptor, de metabotropische glutamaat receptor (mGluR6). Deze receptor is gekoppeld aan een kation-selectief transductie kanaal, dat sluit door een geactiveerd G-proteïne dat wordt gevormd door bovengenoemde acties (Bellone, 2010; Bellone et al., 2010; Sandmeyer et al., 2012; Bellone et al., 2013). Deze afwijkingen worden in de ERG waargenomen als een langere fototopische a-golf, een grotere a-golf amplitude en lagere b-golf amplitudes (Sandmeyer et al., 2007; Bellone et al., 2008; Bellone, 2010; Sandmeyer et al., 2012; Bellone et al., 2013). RT-qPCR analyses hebben aangetoond dat *TRPM1* mRNA expressie significant gedownreguleerd is in zowel de huid van homozygoten voor het luipaard gen als de retina van Appaloosa paarden met CSNB. Dit suggereert dat *TRPM1* betrokken is in zowel pigmentatie als CSNB (Bellone, 2010; Bellone et al., 2010, 2013).

2.7.3 Fokadvies

Het elimineren van CSNB in de Appaloosa populatie is onmogelijk omdat CSNB gelinkt is met het luipaard gen dat cruciaal is in de Appaloosa populatie. Dit is niet zo erg omdat CSNB meestal geen duidelijke symptomen veroorzaakt. Het is wel belangrijk dat de diagnose van CSNB kan gesteld worden om het management van het paard te kunnen aanpassen wat betreft training en omgang. Hierdoor wordt een maximale veiligheid bekomen voor het paard en voor de persoon die er mee omgaat (Sandmeyer et al., 2007).

BESPREKING

Hoewel men reeds bij verschillende aandoeningen heeft kunnen aantonen dat deze geassocieerd zijn met een bepaalde haarkleur en dus afkomstig zijn van hetzelfde gen, is er nog veel onduidelijkheid over welke genen hierbij betrokken en over welke mutaties het juist gaat. Ook de wijze van overerving is in vele gevallen nog niet precies gekend, waardoor men soms nog voor verrassingen komt te staan wat betreft de aan- of afwezigheid van bepaalde kleuren en aandoeningen. Bovendien uiten bepaalde genen zich niet in het fenotype van een paard met een bepaalde basiskleur, zoals bijvoorbeeld de zilver gen mutatie bij een vos paard, waardoor het moeilijker wordt om de aanwezigheid van dit gen te identificeren. Er bestaan verschillende moleculaire testen om deze mutaties op te sporen, maar deze dienen in vele gevallen nog verder uitgewerkt te worden.

Er dient nog veel onderzoek gedaan te worden naar de pleiotrope invloed van genen en de mutaties die ermee gepaard gaan. Het viel op dat veel bronnen over deze materie nog redelijk recent zijn en men dus nog niet zo heel lang deze effecten beschrijft. Het is niet altijd een gemakkelijke materie om te bestuderen omdat er ook veel omgevingsfactoren betrokken zijn bij de overerving van deze genen, alsook bestaat er vaak een interactie met andere genen.

REFERENTIELIJST

1. Andersson L.S., Wilbe M., Viluma A., Cothran G., Ekesten B., Ewart S., Lindgren G. (2013). Equine Multiple Congenital Ocular Anomalies and Silver Coat Colour Result from the Pleiotropic Effects of Mutant *PMEL*. *PLoS ONE* 8(9), e75639.
2. Bellone R.R. (2010). Pleiotropic effects of pigmentation genes in horses. *Stichting International Foundation for Animal Genetics* 41, 100-110.
3. Bellone R.R., Brooks S.A., Sandmeyer L., Murphy B.A., Forsyth G., Archer S., Bailey E., Grahn B. (2008). Differential Gene Expression of TRPM1, the Potential Cause of Congenital Stationary Night Blindness and Coat Spotting Patterns (LP) in the Appaloosa Horse (*Equus caballus*). *Genetics* 179, 1861-1870.
4. Bellone R.R., Forsyth G., Leeb T., Archer S., Sigurdsson S., Imsland F., Mauceli E., Engensteiner M., Bailey E., Sandmeyer L., Grahn B., Lindblad-Toh K., Wade C.M. (2010). Fine-mapping and mutation analysis of TRPM1: a candidate gene for leopard complex (LP) spotting and congenital stationary night blindness in horses. *Briefings in functional genomics* 9(3), 193-207.
5. Bellone R.R., Holl H., Setaluri V. et al. (2013). Evidence for a Retroviral Insertion in TRPM1 as the cause of Congenital Stationary Night Blindness and Leopard Complex Spotting in the Horse. *PLoS ONE* 8, e78280.
6. Brooks S.A., Gabreski N., Miller D., Brisbin A., Brown H.E., Streeter C., Mezey J., Cook D., Antczak D.F. (2010). Whole-Genome SNP Association in the Horse: Identification of a Deletion in Myosin Va Responsible for Lavender Foal Syndrome. *PLoS Genetics* 6(4), e1000909.
7. Brunberg E., Andersson L., Cothran G., Sandberg K., Mikko S., Lindgren G. (2006). A missense mutation in *PMEL17* is associated with the Silver coat color in the horse. *BMC genomics* 7, 46.
8. Castle W.E. (1948). The ABC of color inheritance in horses. *Genetics* 33, 22-35.
9. Castle W.E. (1954). Coat colour inheritance in horses and other mammals. *Genetics* 39, 35-44.
10. Chase H.B., Eaton G.J. (1959). The growth of hair follicles in waves. *Annals of the New York Academy of Science* 83, 365-368.
11. Curik I., Druml T., Seltenhammer M, Sundstro E., Pielberg G.R., Andersson L., Ikner J.S. (2013). Complex Inheritance of Melanoma and Pigmentation of Coat and Skin in Grey Horses. *PLoS Genetics* 9(2), e1003248.
12. Ewart S.L., Ramsey D.T., Xu J., Meyers D. (2000). The horse homolog of congenital aniridia conforms to codominant inheritance. *The American Genetic Association* 91, 93-98.
13. Fanelli H.H. (2005). Coat colour dilution lethal ('lavender foal syndrome'): a tetany syndrome of Arabian foals. *Equine Veterinarian Education* 17(5), 260-263.
14. Fleury C., Bérard F., Leblond A., Faure C., Ganem N., Thomas L. (2000). The study of cutaneous melanomas in Camargue-type gray-skinned horses: Epidemiological survey. *Pigment Cell Res* 13, 47-51.
15. Gremmel F. (1939). Coat colors in horses. *Journal of heredity* 30(10), 437-445.
16. Haase B., Brooks S.A., Schlumbaum A. et al. (2007). Allelic heterogeneity at the equine KIT locus in dominant white (W) horses. *PLoS Genetics* 3, e195.

17. Haase B., Brooks S.A., Tozaki T., Burger D., Poncet P.A., Rieder S., Hasegawa T., Penedo C., Leeb T. (2009). Seven novel KIT mutations in horses with white coat colour phenotypes. *Animal Genetics* 40, 623-629.
18. Haase B., Jagannathan V., Rieder S., Leeb T. (2015). A novel KIT variant in an Icelandic horse with white-spotted coat colour. *Stichting International Foundation for Animal Genetics* 46, 466-469.
19. Harkey M.R. (1993). Anatomy and physiology of hair. *Forensic Science International* 63(1-3), 9-18.
20. Hauswirth R., Jude R., Haase B., Bellone R.R., Archer S., Holl H., Brooks S.A., Tozaki T., Penedo M.C.T., Rieder S., Leeb T. (2013). Novel variants in the KIT and PAX3 genes in horses with white-spotted coat colour phenotypes. *Stichting International Foundation for Animal Genetics* 44, 763-765.
21. Henner J., Poncet P., Gu erin G., Hagger C., Stranzinger G., Rieder S. (2002). Genetic mapping of the (G)-locus, responsible for the coat color phenotype "progressive greying with age" in horses (*Equus caballus*). *Mammalian Genome* 13, 535-537.
22. Holl H.M., Brooks S.A., Archer S., Brown K., Malvick J., Penedo M.C.T., Bellone R.R. (2016). Variant in the RFWD3 gene associated with PATN1, a modifier of leopard complex spotting. *Stichting International Foundation for Animal Genetics* 47, 91-101.
23. Jackson I.J. (1997). Homologous pigmentation mutations in human, mouse and other model organisms. *Human Molecular Genetics* 6, 1613-1624.
24. Lerner A.B., Fitzpatrick T.B. (1950). Biochemistry of melanin formation. *Physiological Reviews* 30(1), 91-126.
25. Marklund L., Johansson M.M., Sandberg K., Andersson L. (1996). A missense mutation in the gene for melanocyte-stimulating hormone receptor (MC1R) is associated with the chestnut coat color in horses. *Mammalian genome* 7, 895-899.
26. Marklund S., Moller M., Sandberg K., Andersson L. (1999). Close association between sequence polymorphism in the KIT gene and the roan coat color in horses. *Mammalian Genome* 10(3), 283-288.
27. McCabe L., Griffin L.D., Kinzer A., Chandler M., Beckwith J.B., McCabe E.R.B. (1990). Overo lethal white foal syndrome: Equine model of aganglionic megacolon (Hirschsprung disease). *American Journal of Medical Genetics* 36(3), 336-340.
28. Metallinos D.L., Bowling A.T., Rine J. (1998). A missense mutation in the endothelin-B receptor gene is associated with Lethal White Foal Syndrome: an equine version of Hirschsprung Disease. *Mammalian Genome* 9, 426-431.
29. Moellmann G., McQuire J., Lerner A.B. (1973). Ultrastructure and cell biology of pigment cells: Intracellular Dynamics and Fine Structure of Melanocytes (with special reference to the effects of MSH and cyclic AMP on microtubules and 10-nm filaments. *Yale Journal of Biology and Medicine* 46, 337-360.
30. Moellmann G., Slominski A., Kuklinska E., Lerner A.B. (1988). Regulation of Melanogenesis in Melanocytes. *Pigment Cell Research* 1, 79-87.

31. Okazaki K., Uzuka M., Morikawa F., Toda K., Seiji M. (1976). Transfer mechanism of melanosomes in epidermal cell culture. *Journal of Investigative Dermatology* 67(4), 541-547.
32. Pielberg G.R., Goloyko A., Sundstrom E. et al. (2008). A cis-acting regulatory mutation causes premature hair graying and susceptibility to melanoma in the horse. *Nature Genetics* 40, 1004-9.
33. Pla P., Larue L. (2003). Involvement of endothelin receptors in normal and pathological development of neural crest cells. *International Journal of Development of Biology* 47, 315-325.
34. Ramsey D.T., Ewart S.L., Render J.A., Cook C.S., Latimer C.A. (1999). Congenital ocular abnormalities of Rocky Mountain Horses. *Vet Ophthalmology* 2, 47-59.
35. Rieder S. (2009). Molecular tests for coat colours in horses. *Journal of Animal Breeding Genetics* 126, 415-424.
36. Rieder S., Stricker C., Joerg H., Dummer R., Stranzinger G. (2000). A comparative genetic approach for the investigation of ageing grey horse melanoma. *Journal animal Breeding Genetics* 117, 73-82.
37. Rieder S., Taourit S., Mariat D., Langlois B., Guerin G. (2001). Mutation in the agouti (ASIP), the extension (MC1R) and the brown (TYRP1) loci and their association to coat colour phenotypes in horses (*Equus caballus*). *Mammalian Genome* 12, 450-455.
38. Salisbury G.W. (1941). The inheritance of equine coat colour: II The basic colors and patterns. *Journal of heredity* 31, 235-240.
39. Sandmeyer L.S., Bellone R.R., Archer S., Bauer B.S., Nelson J., Forsyth G., Grahn B.H. (2012). Congenital stationary night blindness is associated with the leopard complex in the miniature horse. *Veterinary Ophthalmology* 15(1), 18-22.
40. Sandmeyer L.S., Breaux C.B., Archer S., Grahn B.H. (2007). Clinical and electroretinographic characteristics of congenital stationary night blindness in the Appaloosa and the association with the leopard complex. *Veterinary Ophthalmology* 10(6), 368-375.
41. Santschi E.M., Purdy A.K., Valberg S.J., Vrotsos P.D., Kaese H., Mickelson J.R. (1998). Endothelin receptor B polymorphism associated with lethal white foal syndrome in horses. *Mammalian Genome* 9, 306-309.
42. Seltenhammer M.H., Simhofer H., Scherzer S., Zechner P., Curik I., Solkner J., Brandt S.M., Jansen B., Pehamberger H., Eisenmenger E. (2003). Equine melanoma in a population of 296 grey Lipizzaner Horses. *Equine Veterinary Journal* 35(2), 153-157.
43. Seltenhammer M.H., Sundström E., Meisslitzer-Ruppitsch C., Cejka P., Kosiuk J., Neumüller J., Almeder M., Majdic O., Steinberger P., Losert U.M., Stöckl J., Andersson L., Sölkner J., Vetterlein M., Golovko A. (2013). Establishment and characterization of a primary and a metastatic melanoma cell line from Grey horses. *In Vitro Cell Division Biology-Animal* 50, 56-65.
44. Sjastaad O. V., Sand O., Hove K. (2010). *Physiology of domestic animals*. Second edition. Oslo: Scandinavian Veterinary Press. 804, 640-656.
45. Sponenberg D.P., Weise M.C. (1997). Dominant black in horses. *Genetics Selection Evolution* 29, 403-408.

46. Thiruvankadan A.K., Kandasamy N., Panneerselvam S. (2008). Coat colour inheritance in horses. *Livestock Science* 117(2-3), 109-129.
47. Terry R.B., Archer S., Brooks S., Bernoco D., Bailey E. (2004). Assignment of the appaloosa coat colour gene (LP) to equine chromosome 1. *Animal genetics* 35, 134-137.
48. Valentine B.A. (1995). Equine Melanocytic Tumors: A Retrospective Study of 53 Horses (1988 to 1991). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 9(5), 291-297.
49. Van Scott E.J. M.D. (1964). Physiology of hair growth. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 7(4), 1062-1074.
50. Watt B., Le Tenza D., Lemmon M.A., Kerje S., Raposo G., Andersson L., Marks M.S. (2011). Mutations in or near the Transmembrane Domain Alter PMEL Amyloid Formation from Functional to Pathogenic. *PLoS Genetics* 7(9), e1002286.
51. Wikswo M.A. (1973). Action of cyclic AMP on pigment donation between mammalian melanocytes and keratinocytes. *Yale Journal of Biology and Medicine* 46(5), 592-601.
52. Yang G.C., Croaker D., Zhang A.L., Manglick P., Cartmill T., Cass D. (1998). A dinucleotide mutation in the endothelin-B receptor gene is associated with lethal white foal syndrome (LWFS); a horse variant of Hirschsprung disease (HSCR). *Human Molecular Genetics* 7(6), 1047-1052.