

Auf der Spur des genetischen «Bauplans»

Wie eine Museumssammlung von Hundeskeletten und Gewebeproben bei der Entschlüsselung des Zusammenhangs zwischen Erbanlage und Gestalt helfen kann, welche Rolle die Albert-Heim-Stiftung dabei spielt und was sich Forscher von den Resultaten erhoffen, erfahren Sie in diesem Fachartikel.

Jeffrey J. Schoenebeck, Maud Rimbault, Alex Byers, Elaine A. Ostrander, Marc Nussbaumer *

Chihuahua, Irischer Wolfshund, Englische Bulldogge, Barsoi, Komondor und Nackthund: Diese unwahrscheinliche und fast unglaubliche Formenvielfalt innerhalb einer Art ist im ganzen Tierreich einzigartig und unerreicht. Sie hat denn auch seit jeher nicht nur Hundezüchter und Hundehalter, sondern auch Biologen, Haustierzoologen und Genetiker fasziniert.

Dank grosser Fortschritte in den entsprechenden Wissenschaftszweigen wurde in den vergangenen rund zehn Jahren in verschiedenen internationalen Labors begonnen, die genetischen Grundlagen dieser Vielfalt zu erforschen. Zwei wichtige Hilfsmittel konnten dieses Unterfangen beschleunigen: Einerseits wurde 2005 der erste Entwurf einer Kartierung des Hundegenoms publiziert (1). Zweitens kamen sogenannte Genotypisierungs-Chips auf den Markt, die eine kostengünstige Analyse des Erbguts, insbesondere der vererbaren Varianten von kleinsten Positionen in der DNA, auch SNPs genannt, ermöglichen. «SNP» ist die Abkürzung für den englischen Begriff «Single Nucleotide Polymorphism».

Noch viele ungeklärte Fragen

Seitdem haben Wissenschaftler verschiedene Gene und Mutationen identifiziert, die für eine Reihe von rassespezifischen Merkmalen verantwortlich gemacht werden, so unter anderen Fellbeschaffenheit und Fellfarbe, Körpergrösse und Kopfform. Trotz dieser Fortschritte in der Zuordnung genetischer zu morphologischen Veränderungen verbleiben viele ungeklärte Fragen zwischen der Genetik und der Morphologie. Betrachten wir zum Beispiel die vier Schweizer Sennenhund-Rassen (Abb.1).



Abbildung 1: Die vier Schweizer Sennenhunderassen – Grosser Schweizer, Berner, Appenzeller und Entlebucher (von links): Verwandt, aber morphologisch verschieden. (zvg)*

Historische Aufzeichnungen zeigen, dass die Sennehunde eng miteinander verwandt sind. Der Grosse Schweizer Sennenhund wiegt jedoch fast das Dreifache des Entlebuchers, der mit rund 55 Zentimetern Schulterhöhe um einiges kleiner ist als sein grosser Vetter. Derartige Unterschiede werfen Fragen auf – nach den zugrunde liegenden genetischen Ursachen, ganz zu schweigen von den immensen Unterschieden innerhalb der über 400 weltweit anerkannten übrigen Hunderassen. Zum Beispiel:

- Welche Gene sind verantwortlich für die zahlreichen Ausprägungen der Grösse und der Gestalt?
- Auf welchen genetischen Prozessen basieren Änderungen der Genfunktion?
- Sind diese Veränderungen unabhängig

voneinander innerhalb der einzelnen Hunderassen entstanden oder wurden sie durch selektive Zucht eingekreuzt und sorgfältig weitergezüchtet?

Gewebeproben für die Forschung

Der Erforschung dieser Fragen stellt sich auch das Naturhistorische Museum der Burgergemeinde Bern zusammen mit der daselbst beheimateten Albert-Heim-Stiftung für kynologische Forschung. Zu diesem Zweck werden seit einigen Jahren zusätzlich zu den Schädeln und Skeletten von Rassehunden auch Gewebeproben für genetische Untersuchungen gesammelt. Erstmals können nun auf Ebene des einzelnen Individuums sowohl morphologische Merkmale am Schädel und am Skelett

(Phänotyp) als auch die zugrunde liegende Genetik (Genotyp) untersucht und in Korrelation gebracht werden; und zwar sowohl innerhalb einer Rasse auch als zwischen verschiedenen Rassen.

Material und Methode

Gesamthaft konnten wir 114 Hunde von 61 Rassen in unsere Untersuchungen einbeziehen (Tabelle Seite 22). Von jedem Individuum wurde der Schädel vermessen und rund 170 000 SNPs mittels erwähnter Chips untersucht. Von 67 der 114 Hunde konnten wir zudem je 20 Skelettmasse bestimmen. Bei den Schädeln wurden 51 Messpunkte, sogenannte «Landmarks»

untersuchten wir, inwieweit der Schädel als Referenz für die Grösse dienen kann. Frühere Arbeiten zeigen, dass die Hirnstamm-basis, ein relativ einfach zu bestimmendes Mass an der Schädelbasis, eine hohe Korrelation zur Körpergrösse aufweist (3). Bei den vorliegenden Schädeln reicht dieses Mass von 25.7 mm (Chihuahua) bis zu 83.8 mm (St. Bernhardshund). Zusätzlich haben wir den gesamten Hirnschädel mittels mathematischer Verfahren (Hauptkomponentenanalyse) den erhobenen Skelettmassen gegenübergestellt und feststellen können, dass bei mangelnden Skelettmassen ein mittels dieser Methode berechnetes Schädelmass (Hirnschädel-Centroid) als zuver-

unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Grösse. Wie erwartet zeigen kurzköpfige Rassen wie der Mops, der Boston Terrier und der Bullmastiff die kürzesten Schnauzen, Barsoi, Scottish Terrier und der einzige Zwergdachshund im Untersuchungsmaterial die längsten.

Der Einfluss von Wachstums-Genen

Frühere Untersuchungen lassen vermuten, dass eine Reihe für das Wachstum verantwortliche Gene nicht nur Körpergrösse, sondern auch Kopfform bestimmen (2,5–8). Wir untersuchten daher, inwiefern diese bekannten Wachstums-Gene auch für die in unserem Untersuchungsmaterial festge-



Abbildung 2: Schädelmessung mit Hilfe eines 3-D-Digitalisierers und Übertragung der Koordinaten auf den Rechner.

(AHS)

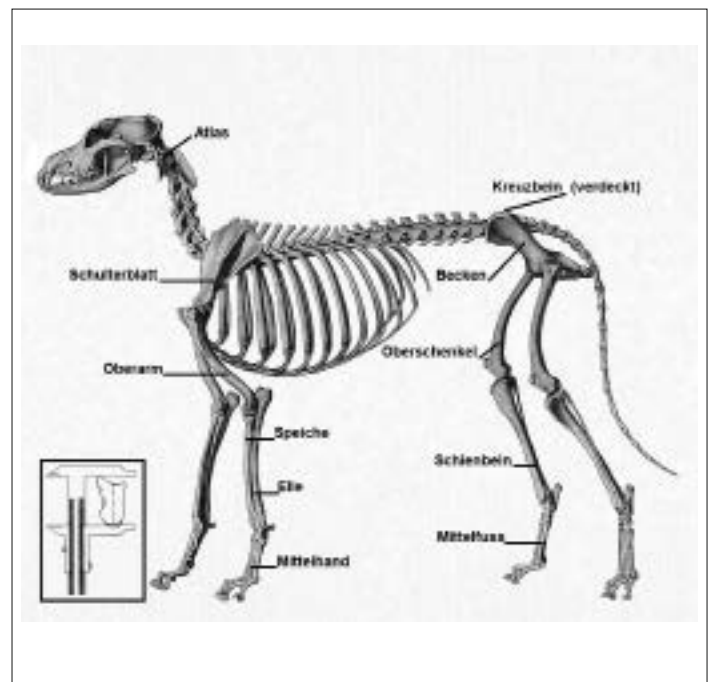


Abbildung 4: Hundeskelett mit den für die Untersuchung verwendeten Knochen (berücksichtigt: 11 Knochen, insgesamt 20 Masse).

(Abb. 3, Seite 22), bestimmt und mittels 3-D-Digitalisierung vermessen (Abb. 2). Eine ausführliche Beschreibung der genetischen Verfahren und der 3-D-Digitalisierung findet sich in einer früheren Arbeit des Erstautors (2). Dazu kamen noch mit Schieblehre zu messende 11 Messstrecken sowie ein Winkel, der die Stellung der Schnauze zum Hirnschädel beschreibt (3,4). Am postkranialen Skelett wurden 20 über das gesamte Skelett verteilte Längen- und Breitenmasse ermittelt (5) – (Abb. 4).

Morphologische Vielfalt

Ein Ziel bestand darin, die gesamte Gröszenvariabilität der Hundeskelette zu erfassen. Da aber fast ein Drittel unseres Materials über kein postkraniales Skelett verfügt,

lässiges Mass zur Darstellung der Körpergrösse verwendet werden darf (Abb. 5, Seite 23). Wenig überraschend, zeigt der Chihuahua das kleinste postkraniale Skelett und auch das kleinste Mass für den Hirnschädel. Das grösste Skelett gehört einer Deutschen Dogge, das grösste Mass für den Schädel hingegen einem Bernhardiner. Im Verhältnis zur Körpergrösse haben Barsoi und Huskies die schlanksten Beinknochen. Demgegenüber zeigen Scottish Terrier, Bernhardiner, Bullmastiff und Alano Español vergleichsweise robustere Extremitäten. Eine funktionelle Interpretation dieser Befunde steht noch aus.

Die verschiedenen Formen der Schädel variieren bekanntlich und für jeden Laien ersichtlich ausserordentlich stark; dies auch

stellte Variabilität der Grösse und insbesondere auch der Wuchsform verantwortlich sein könnten (Abb. 6, Seite 23). Mit anderen Worten: Wir suchten nach einer direkten Korrelation zwischen genetischen und morphologischen Änderungen. Tatsächlich lässt sich eine Tendenz feststellen, wonach bestimmte Varianten der Gene IGF1, STC2, GHR, HMGA2 und SMAD2 mit zunehmend kleiner werdenden Rassen assoziiert sind. So zeigen etwa Chihuahuas am meisten Veränderungen in diesen Genen verglichen mit einer grossen Rasse. Mittलगrosse Rassen zeigen hingegen eine noch nicht klar durchschaubare heterogene Mischung von Veränderungen in ihren Wachstums-genen. Abschnitte auf den Chromosomen 1 und 30 und die Mutation auf dem BMP3-

Rasse	Kürzel	n	Sex (m/w)	Skelett
Airedale	AIRT	1	0/1	1
Alano Español	ALAO	1	1/0	1
Alaskan Malamute	ALAM	3	2/1	3
Appenzeller Sennenhund	APPH	3	1/2	2
Barsoi	BORZ	2	0/2	1
Groenendael	BELS	1	1/0	0
Malinois	BMAL	1	0/1	0
Tervueren	TURV	2	1/1	1
Berger Blanc Suisse	WSSD	5	4/1	5
Berner Sennenhund	BMD-	3	2/1	2
Border Terrier	BORT	2	0/2	2
Boston Terrier	BOST	1	0/1	0
Berger de Brie	BRIA	2	0/2	1
Bullmastiff	BULM	1	1/0	1
Canaan Dog	CANA	2	0/2	0
Chesapeake Bay Retriever	CHBR	1	0/1	0
Chihuahua	CHIH	7	1/6	7
Chow Chow	CHOW	1	1/0	0
English Cocker Spaniel	ECKR	1	1/0	0
Dalmatiner	DALM	1	1/0	1
Deutscher Wachtelhund	GEMS	2	1/1	2
English Toy Terrier	ETTR	1	0/1	0
Entlebucher Sennenhund	ENTL	2	0/2	0
Eurasier	EURS	2	1/1	2
Deutscher Schäferhund	GSD-	2	1/1	1
Golden Retriever	GOLD	1	0/1	0
Gordon Setter	GORD	1	1/0	1
Gos d'Atura	CSHD	1	0/1	1
Deutsche Dogge	DANE	1	0/1	1
Grönlandhund	GRND	4	1/3	0
Grosser Schweizer Sennenhund	GSMD	1	0/1	1
Haho-Awu	HAHO	1	1/0	0
Hovawart	HOVA	2	1/1	2
Irish Wolfhound	IWOF	3	1/2	1
Italienisches Windspiel	ITGY	1	1/0	0
Labrador Retriever	LAB-	1	0/1	0
Lakeland Terrier	LAKE	1	1/0	0
Leonberger	LEON	1	1/0	1
Zwergdachshund	DACH	1	0/1	0
Mittelpudel	SPOO	1	0/1	0
Norwich Terrier	NOWT	1	0/1	1
Nova Scotia Duck Tolling Retriever	NSDT	1	0/1	1
Österreichische Bracke	ABTH	1	1/0	1
Perro sin Pelo del Peru	PIOD	1	1/0	1
Pointer	PNTR	1	0/1	0
Mops	PUG-	6	4/2	1
Rhodesian Ridgeback	RHOD	2	1/1	2
Riesenschnauzer	GSNZ	1	1/0	1
Rottweiler	ROTT	1	1/0	0
Schwyzer Laufhund	SLAU	1	1/0	1
Scottish Terrier	SCOT	2	0/2	2
Segugio Italiano	SGGO	1	1/0	0
Siberian Husky	HUSK	3	1/2	3
Skye Terrier	SKYE	1	1/0	0
St. Bernhardshund	STBD	14	5/9	10
Tibetan Mastiff	TIBM	1	1/0	1
Pudel (Zwerg)	TPOO	1	1/0	1
Vizsla	VISZ	1	0/1	1
Weimaraner	WEIM	1	0/1	1
West Highland White Terrier	WHWT	1	0/1	0
Xoloitzcuintle	XOLO	1	0/1	1



Abbildung 3: Hundeschädel mit eingezeichneten Messpunkten, sogenannten «Landmarks», für die 3-D-Vermessung. Die blauen Punkte beschreiben die in dieser Arbeit als «Hirnschädel» bezeichnete Region des Hinterkopfes. (Abbildung aus: Schoenebeck et al., PLoS Genetics 2012)

Gen scheinen nun insofern die Wuchsform zu beeinflussen, als sie vermutlich für die drastische Verkürzung der Schnauze («Brachygnathie») bei entsprechenden Rassen wie zum Beispiel der Bulldogge verantwortlich zeichnen. Tatsächlich zeigen die Möpfe und die Boston Terrier beinahe durchgehend alle die entsprechenden Mutationen in diesen Genen.

Eher überraschend waren die Ergebnisse beim (einzigem) Bullmastiff: Kein einziger mit doggenartiger Schnauzenverkürzung assoziierter Marker konnte gefunden werden. Dies deuten wir dahingehend, dass zusätzliche, noch nicht identifizierte genetische Merkmale für diese Veränderung verantwortlich zu machen sind und entsprechend noch der Entdeckung harren. Die erwähnte Variante des BMP3-Gens, das bei vielen Rassen für die Verkürzung der Schnauze sorgt, ist erstaunlicherweise auch bei einigen nicht-brachygnathen Rassen, wie etwa beim Scottish Terrier, vorhanden. Unsere bisherigen Ergebnisse lassen vermuten, dass dieses Gen zumindest bei einigen Rassen eher bei der Gestaltung der Schädelkapsel und weniger bei derjenigen der Schnauzenlänge wirkt. Diese Hypothese bedarf jedoch noch der Überprüfung.

Schlussfolgerung

Unsere genetischen und morphometrischen Untersuchungen an den unterschiedlichsten Hunderassen zeigen uns – wieder einmal – ihre erstaunliche Vielfalt in Bezug auf Grösse und Schädelform. Dieser Formenreichtum ist höchstwahrscheinlich auf einige gemeinsame, das Skelettwachstum steuernde Mutationen zurückzuführen. Es wird aber auch deutlich, dass das Verständnis der Hundegenetik noch unvollständig ist und ihre Erforschung noch viele weitere Entdeckungen und Überraschungen parat hält. So betrachten wir denn auch die vorliegende Arbeit bloss als kurzen Zwischenhalt auf dem langen Weg zur Entschlüsselung des Hundegenoms.

Die Sammlung der Albert-Heim-Stiftung im Naturhistorischen Museum ist die grösste kynologische Sammlung weltweit. Generationen von Forschern haben sich der Tausenden von Schädeln angenommen und dabei Beobachtungen, Modelle und Schlussfolgerungen zu Abstammung, Rassebildung, Wachstum und Formenvielfalt gemacht. In den letzten Jahrzehnten hat die Sammlung zwei wichtige Neuerungen erfahren; und zwar das konsequente Sammeln der postkranialen Skelette und der

Tabelle 1: Die untersuchten Rassen mit den jeweiligen Geschlechtern und der Anzahl. Gewebeprobe und Schädel waren von allen Rassen vorhanden, Skelette bloss von einem Teil. (Lesebeispiel zum Verständnis: Mops, 4 Rüden, 2 Hündinnen mit je Schädel und Gewebeprobe, aber bloss einem Skelett.)



Punkto Grösse und Schädelform unserer Hunde herrscht eine grosse Vielfalt. (zvg)

Gewebeproben. Diese wertvolle Neuerung wird den wissenschaftlichen Wert der Sammlung für zukünftige Forschung nicht nur erhalten, sondern ganz wesentlich vergrössern. Und die Sammlung wird, so hoff-

fen wir, die Wissenschaft vermehrt auch in Richtung Genetik, Entwicklungsbiologie und Evolution führen – und damit unser Wissen der Wachstums- und Gestaltungsprozesse mehren.

Verdankung: Diese Arbeit wurde mit einem Beitrag der Albert-Heim-Stiftung unterstützt. Die SNP-Chips wurden am NHGRI (National Human Genome Research Institute, Bethesda, MD, USA) und am Edinburgh Genomics (The University of Edinburgh, UK) bearbeitet.

Die Autoren: Jeffrey J. Schoenebeck arbeitet am «Roslin Institute and R(D)SVS» der Universität Edinburgh (GB); Maud Rimbault, Alex Byers und Elaine A. Ostrander am «Cancer Genetics Branch, National Human Genome Research Institute» in Bethesda (USA) und Marc Nussbaumer im Naturhistorischen Museum der Burggemeinde Bern.

Literatur: (1) Lindblad-Toh, K. et al., 2005: Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. Nature 438, 803–819. (2) Schoenebeck, J. J. et al., 2012: Variation of BMP3 Contributes to Dog Breed Skull Diversity. PLoS Genet 8(8), e1002849. (3) Nussbaumer, M., 1982: Über die Variabilität der dorso-basalen Schädelknickungen bei Haushunden. Zool. Anz. 209, 1–32. (4) Lüps, P. 1974. Biometrische Untersuchungen an der Schädelbasis des Haushundes. Zool. Anz. 192, 383–413. (5) Driesch, A. von den, 1976: A

Guide to the Measurement of Animal Bones from Archaeological Sites. Peabody Museum Bulletin 1. Cambridge, Massachusetts: Peabody Museum of Archaeology and Ethnology, Harvard University. (6) Rimbault, M. et al. 2013: Derived variants at six genes explain nearly half of size reduction in dog breeds. Genome Research 23(12), 1985–1995. (7) Vernau, K. M. et al 2013: Genome-wide association analysis identifies a mutation in the thiamine transporter 2 (SLC19A3) gene associated with Alaskan Husky encephalopathy, PLoS One 8(3), e57195. (8) Boyko, A. R. et al., 2010 A simple genetic architecture underlies morphological variation in dogs. PLoS Biol 8(8), e1000451.

Quelle Bild Seite 18: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f4/Sennenhund.jpg>



Die Albert-Heim-Stiftung unterstützt die wissenschaftliche Forschung auf dem Gebiet der Kynologie. Sie leistet damit einen wesentlichen Beitrag zur Erhaltung und Förderung gesunder Rassehunde. Die Zusammenarbeit mit der Schweizerischen Kynologischen Gesellschaft und den Universitäten ermöglicht immer wieder die Erarbeitung von Grundwissen für die Züchter. Dazu trägt auch die kynologische Sammlung mit unter anderem über 2500 Hundeschädeln, Fellen und Skeletten bei (www.albert-heim-stiftung.ch).

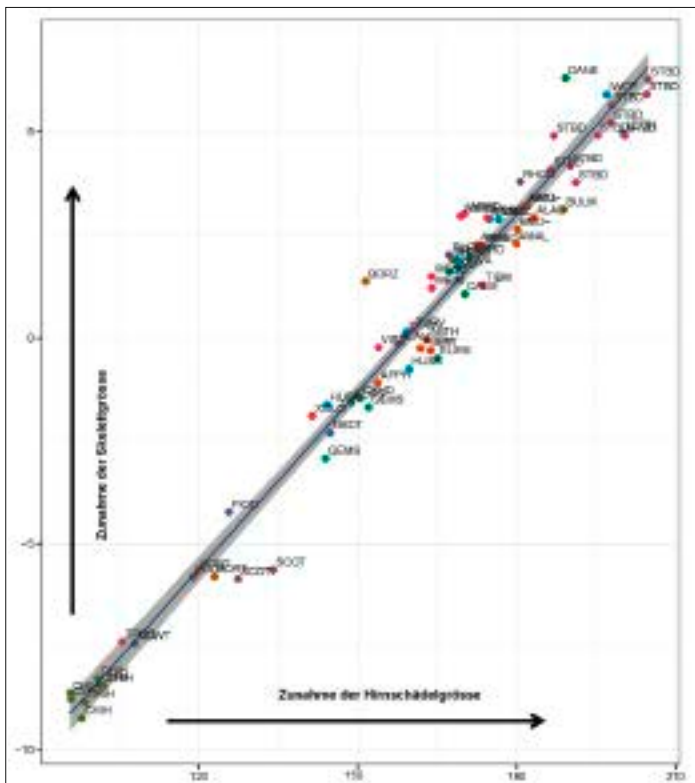


Abbildung 5: Für die Darstellung komplexer Zusammenhänge bieten sogenannte Hauptkomponentenanalysen samt grafischer Darstellungen ihrer Ergebnisse eine wichtige Hilfe. Zwischen Hirnschädel (vergleiche auch Abbildung 3) und Körpergrösse besteht unabhängig von der Rasse eine enge Beziehung. Trotz unterschiedlicher Schädelformen gibt daher der jeweilige Hirnschädel ein sehr gutes Bezugsmass für die Körpergrösse.

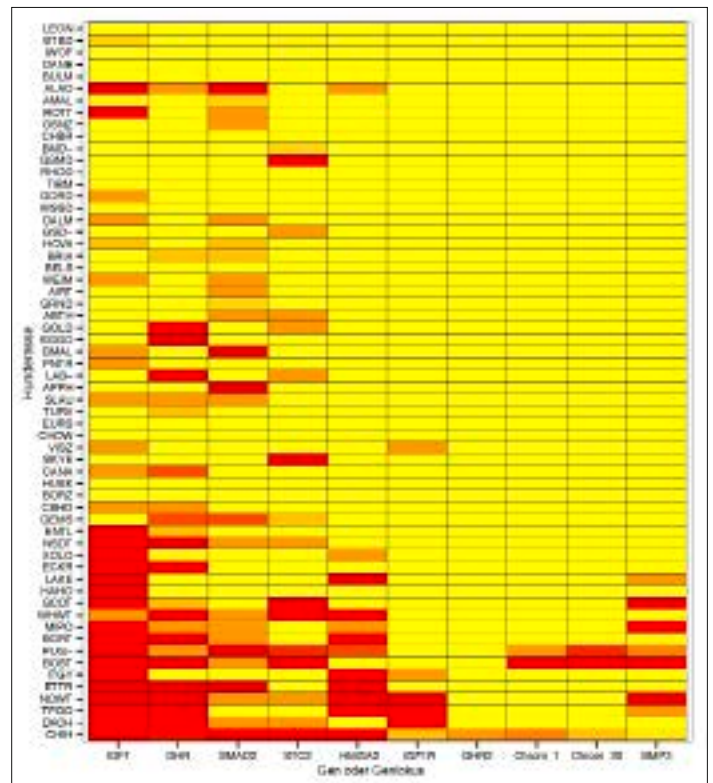


Abbildung 6: Übersicht der genetischen Marker, welche Rückschlüsse auf die Schädelgestalt erlauben. Rassen mit mehreren untersuchten Individuen sind mit ihrem Mittelwert vertreten. Gelb deutet auf ein Gen oder auf eine Region im Chromosom (z.B. «Chrom_1»), die der Urform beim Wolf entspricht. Rot steht für Mutationen in Genen oder Regionen im Chromosom, die sich davon unterscheiden. Mit Orange sind Mutationen bezeichnet, die nicht «fixiert» sind, das heisst, bei einigen Individuen sind sie vorhanden, bei anderen nicht.