

FUGATO-plus Projekt Gene-FL

Genetische Grundlagen der Fundamentstabilität bei Rind, Schwein,
Pferd und Schaf

Genetic causes of a pre-disposition for diseases of the feet and leg
system in cattle, swine, horse and sheep

Teilprojekt Pferd: Aufklärung genetischer Prädispositionen für
Osteochondrose beim Deutschen Warmblut

**Schlussbericht des Institutes für Tierzucht und Tierhaltung
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel**

Förderkennzeichen 0315135F

Dr. J. Tetens, Prof. Dr. G. Thaller

Prof. Dr. Georg Thaller

Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Institut für Tierzucht und Tierhaltung
Hermann-Rodewald-Str. 6, D-24118 Kiel
Email: gthaller@tierzucht.uni-kiel.de
Tel.: +49 (0)431 880-7329
Fax: +49 (0)431 880-2588

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung, und Forschung unter dem Förderkennzeichen 0315135F gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.



Inhalt

1. Kurzdarstellung	3
1.1. Aufgabenstellung	3
1.2. Voraussetzungen, unter denen das Projekt durchgeführt wurde	4
1.3. Planung und Ablauf	4
1.4. Wissenschaftlicher Kenntnisstand zu Beginn des Vorhabens	6
1.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen	6
2. Eingehende Darstellung	6
2.1. Verwendung der Zuwendung und erzielte Ergebnisse	6
2.1.1. Sammlung und Aufbereitung phänotypischer Daten, Tierausswahl	6
2.1.2. Initiale Identifizierung funktioneller Kandidatengene	8
2.1.3. Analyse von Populationsstrukturen	9
2.1.4. Durchführung von Assoziationsstudien für OC/OCD	10
2.1.5. Durchführung von Assoziationsstudien für das Merkmal Stockmaß	13
2.2. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit	14
2.3. Darstellung des voraussichtlichen Nutzens, insbesondere der Verwertbarkeit der Ergebnisse im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans	14
2.4. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen	14
2.5. Veröffentlichungen	15
2.6. Anhang: Veröffentlichungsverzeichnis des Berichtes	16

1. Kurzdarstellung

1.1. Aufgabenstellung

Fundamentprobleme gehören zu den Hauptursachen für eine reduzierte Nutzungsdauer, gestörtes Wohlbefinden und herabgesetzte Produktivität bei allen wichtigen Nutztierspezies. Beim Pferd stellt die Osteochondrose (OC) bzw. Osteochondrosis dissecans (OCD) mit rasseabhängigen Häufigkeiten bis zu 20% die wichtigste Erkrankung des Bewegungsapparates dar. Osteochondrose ist eine bei wachsenden Tieren unterschiedlicher Spezies vorkommende Störung der enchondralen Ossifikation. Beim Fortschreiten der Erkrankung kommt es zur Ablösung osteochondraler Fragmente, die dann als sog. Chips oder Gelenkmäuse frei in der Gelenkkapsel vorliegen. Diesen Zustand bezeichnet man als Osteochondrosis dissecans (OCD). Die Erkrankung ist multifaktoriell bedingt und weist eine klare genetische Komponente auf. Es wurden Heritabilitäten von bis zu 0,64 beim deutschen Reitpferd geschätzt (Willms et al., 1999). Gleichzeitig ist die Erkrankung von hoher ökonomischer Relevanz, die im Wesentlichen durch einen Wertverlust des Tieres bedingt ist (van Hoogmoed et al., 2003). Dabei ist es unerheblich, ob es zu klinischen Symptomen kommt; bereits ein röntgenologischer Befund ohne äußere Symptomatik ist als Schadensereignis einzustufen. Hinzu kommen etwaige Behandlungs- und Operationskosten sowie Ausfälle (RIRDC, 1997). Wenngleich bereits jetzt eine röntgenologische Untersuchung für die Zulassung zur Zucht notwendig ist, fehlen bislang detaillierte Informationen, die eine gezielte züchterische Strategie zur Bekämpfung der OC/OCD ermöglichen würden.

Das Ziel des hier dargestellten Teilprojektes, das in enger Zusammenarbeit mit dem Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN) durchgeführt wurde, war daher die Kartierung und Identifizierung von Genorten mit einem signifikanten Einfluss auf die Entstehung von OC/OCD. Die Aufgabenstellung beinhaltete die

- Sammlung, Aufbereitung und Systematisierung phänotypischer Befunde durch die Auswertung von routinemäßig erstellten Röntgenprotokollen,
- Auswahl einer optimalen Kohorte für genomweite Assoziationsstudien / Kartierung von Merkmalsgenorten,
- Durchführung von Assoziationsstudien,
- Definition von Genomregion zur weiteren Analyse (Partner FBN).

1.2. Voraussetzungen, unter denen das Projekt durchgeführt wurde

Die Idee und das Konzept des Vorhabens entstanden unter folgenden Voraussetzungen:

1. Osteochondrose stellt ein ernst zu nehmendes Problem in der Reitpferdezucht dar, das nennenswerten wirtschaftlichen Schaden verursacht. Die Erkrankungshäufigkeit ist hoch.
2. Dem Problem wird züchterisch durch Röntgenuntersuchungen und dem Zuchtausschluss stark betroffener Tiere Rechnung getragen (Einteilung in Röntgenklassen).
3. Die Erfassung des Phänotyps ist problematisch. Der Röntgenbefund selbst stellt das schadenverursachende Merkmal dar, ist jedoch nicht zwangsläufig mit dem Auftreten klinischer Symptome verbunden. Die Zuordnung einzelner Befunde zum Krankheitskomplex OC/OCD ist strittig. Die Standardisierung ist schwierig.
4. Die Kartierung merkmalsbeeinflussender Genorte hat nur in begrenztem Umfang und sehr wenigen, eng begrenzten Populationen stattgefunden. Ein verbandsübergreifender Ansatz mit großer Tierzahl und daher Testmächtigkeit fehlt.

Vor diesem Hintergrund wurde das hier dargestellte Projekt konzipiert. Eine Studie mit möglichst 1.000 Tieren aus allen wesentlichen Warmblutzuchtverbänden war eine Herausforderung, schien aber machbar. Eine wesentliche Notwendigkeit dabei war die Definition möglichst einfacher und verbandsübergreifend verwendbarer Phänotypen. Anfänglich war zudem die Kartierung mit Mikrosatellitenmarkern innerhalb großer Familienstrukturen geplant. Durch die rasante Entwicklung der SNP-Chip Technologie wurde aber zu Projektbeginn ein equiner SNP-Chip verfügbar. Diese Entwicklung erlaubte eine vereinfachte Herangehensweise und hat das Projekt wesentlich vorangetrieben.

1.3. Planung und Ablauf

Das Vorhaben wurde im Rahmen des Gesamtverbands FUGATO-plus GENE-FL durchgeführt. Das Teilprojekt Pferd wurde gemeinsam von den Projektpartnern Kiel und Dummerstorf bearbeitet (PD. Dr. Kühn). Der Ablauf und die grundsätzliche Organisation der Zusammenarbeit zwischen den beiden Partnern ist Abbildung 1 zu entnehmen.

In regelmäßigen Projekttreffen des gesamten Verbundes wurde jeweils der Stand aller Teilprojekte vorgestellt und diskutiert sowie das weitere Vorgehen abgestimmt. Es fand auch eine Vielzahl informativer Treffen einzelner Projektpartner bezüglich spezifischer Fragestellungen statt. Die Projektpartner wurden vom Koordinator stets über den aktuellen Sachstand des Projekts, insbesondere über Gespräche mit dem Projektträger unterrichtet.

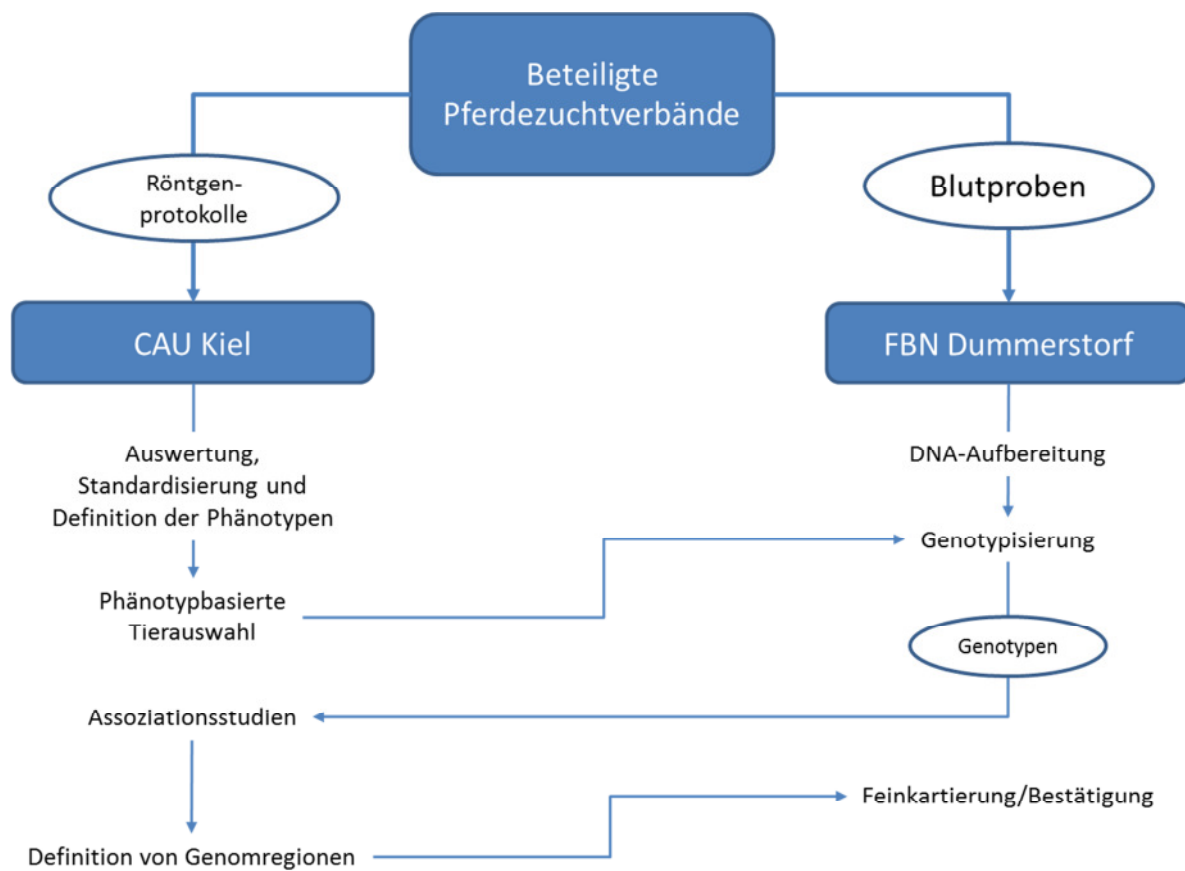


Abbildung 1. Grundsätzliche Organisation der Arbeiten zur Kartierung merkmalsassoziierter Genorte im Teilprojekt Pferd.

Die Arbeiten an der CAU Kiel wurden von folgenden Personen durchgeführt:

- Koordination des Teilprojektes: Prof. Dr. Georg Thaller, Dr. Jens Tetens
- Aufbereitung der Phänotypen, Tierausswahl: M. Sc. Inga R. Wulf, Dr. Verena Gonzales-Lopez, Dr. Jens Tetens
- Identifikation funktioneller Kandidatengene: M.Sc. Anita Ehret (Bachelorarbeit, abgeschlossen 02/09)
- Analyse von Pedigree-/Populationsstrukturen: M.S.c Danica Sindt (Masterarbeit, abgeschlossen 2010), Dr. Dirk Hinrichs
- Durchführung der Assoziationsstudien: M. Sc. Inga R. Wulf, Dr. Verena Gonzales-Lopez, Dr. Jens Tetens
- Erstellen wissenschaftlicher Publikationen (noch nicht abgeschlossen): Dr. Jens Tetens

Der Ablauf des Projektes hat sich auf Grund der erst verzögert möglichen Einstellung einer Doktorandin, einer verzögerten Datenanlieferung durch die Verbände sowie durch eine längere Erkrankung der zuständigen Doktorandin verzögert. Diese Umstände wurden in den Zwischenberichten ausführlich dargelegt und führten zur Genehmigung einer kostenneutralen Laufzeitverlängerung bis zum 31.08.2011.

1.4. Wissenschaftlicher Kenntnisstand zu Beginn des Vorhabens

Die Untersuchungen knüpften an den im Antrag ausführlich dargelegten und in der wissenschaftlichen Fachliteratur frei zugänglichen Stand der Wissenschaft und Technik an. Es wurden keine bekannten Konstruktionen, Verfahren und Schutzrechte für die Durchführung des Vorhabens benutzt. Die verwendete Fachliteratur ist im beigefügten Literaturverzeichnis sowie in den beigefügten Publikationen angegeben. Es wurden die fachspezifisch ausgewiesenen Informations- und Dokumentationsdienste, z.B. PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/>) verwendet.

1.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Arbeiten erfolgten überwiegend in enger Zusammenarbeit mit den einzelnen Partnern innerhalb des Verbundprojektes. Für das Teilprojekt Pferd ist dabei insbesondere die enge Kooperation mit dem Partner FBN hervorzuheben. Gleichzeitig erfolgten alle Arbeiten in Zusammenarbeit mit den beteiligten Wirtschaftspartnern, d.h. der FN sowie insbesondere den beteiligten Pferdezuchtverbänden:

- Verband der Züchter des Holsteiner Pferdes e.V., Elmshorn
- Hannoveraner Verband e.V., Verden/Aller
- Trakehner Verband, Neumünster
- Oldenburger Pferdezuchtverband e.V., Vechta
- Springpferdezuchtverband Oldenburg-International e.V., Vechta
- Westfälisches Pferdestammbuch e.V., Münster

2. Eingehende Darstellung

2.1. Verwendung der Zuwendung und erzielte Ergebnisse

2.1.1. Sammlung und Aufbereitung phänotypischer Daten, Tierauswahl

Die Erfassung phänotypischer Daten für den Merkmalskomplex OC/OCD stellt insbesondere über verschiedene Verbände hinweg eine Herausforderung dar. Das Hauptproblem liegt in der

Standardisierung der von unterschiedlichen Tierärzten in unterschiedlichen Zeiträumen erfassten Daten. Die im Rahmen der Hengstkörung routinemäßig erhobenen Befunde stellen bereits eine Interpretation der dazu erstellten Röntgenaufnahmen dar. Um die darauf basierenden Röntgenprotokolle über verschiedenen Verbände und Körjahrgänge hinweg verwerten zu können, ist eine Standardisierung sowie eine Vereinheitlichung der verwendeten Begrifflichkeiten notwendig, welche die manuelle Auswertung jedes einzelnen Röntgenprotokolls erfordert. Alternativ wäre eine erneute Auswertung aller Röntgenaufnahmen durch nur einen Untersucher denkbar, was aber beim Umfang der vorliegenden Studie nicht durchführbar war. Ein weiteres Problem stellt die Vorselektion der Tiere dar. Aus organisatorischen Gründen können nur solche Tiere erfasst werden können, die auch tatsächlich zur Körung vorgestellt werden. Alle besonders schwer von OC betroffenen Tiere werden bereits im Vorwege identifiziert und nicht vorgestellt.

Insgesamt standen uns 1.166 Röntgenprotokolle zur Verfügung. Diese wurden manuell erfasst und die Befunde in Absprache mit einem der als Obergutachter fungierenden Tierärzte (Dr. Blobel) standardisiert. Sodann wurde für jede Befundlokalisation jeweils eine 0/1-Kodierung für OC und OCD erarbeitet. Die Befundlokalisationen waren Huf,- Kron- und Fesselgelenk sowie die gesamte Zehe. Zusätzlich wurde das Sprunggelenk erfasst. Das Kniegelenk wurde von den Untersuchungen ausgeschlossen, weil zu wenige Tiere als betroffen einzustufen waren. An Hand der erhobenen Befunde wurden 944 Tiere für die Genotypisierung ausgewählt, die am FBN Dummerstorf erfolgte. Der Verband Wesfälisches Pferdestammbuch e.V. wurde dabei nicht berücksichtigt, weil die zu geringe Probenzahl eine sinnvolle Auswertung nicht erlaubte. Für die Assoziationsstudien wurden 916 Tiere ausgewählt. Die Verteilung dieser Tiere auf die beteiligten Verbände und Körjahrgänge ist Tabelle 1 zu entnehmen. Diese 916 Hengste stammen von 270 Vätern ab, wobei 136 Väter nur einen Nachkommen aufweisen. Lediglich sieben Väter haben mehr als 20 Nachkommen. Von drei Vätern sind 30 oder mehr Nachkommen im Datensatz vorhanden. Die größte väterliche Halbgeschwisterfamilie besteht aus 37 Hengsten. Die an diesem Material ermittelten Häufigkeiten entsprechen im Wesentlichen den auch in der Literatur verfügbaren Angaben. Eine Zusammenfassung gibt Abbildung 2.

Tabelle 1: Verteilung der in die Assoziationsstudien aufgenommenen Hengste auf die Körjahrgänge und Verbände.

Verband	Körjahrgang				Gesamt
	2005	2006	2007	2008	
Hannoveraner	79	90	70	68	307
Holsteiner	86	90	90	82	348
Oldenburger	58	71	65	23	217
Trakehner	0	19	15	10	44
Gesamt	223	270	240	183	916

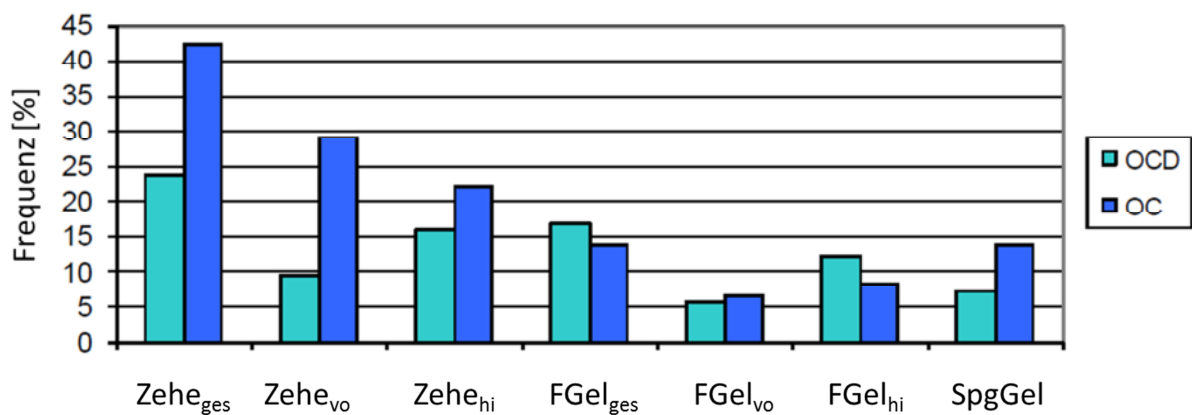


Abbildung 2: Befundhäufigkeiten bei den 916 im Rahmen der Assoziationsstudien untersuchten Hengsten (FGel=Fesselgelenk, SpgGel=Sprunggelenk).

2.1.2. Initiale Identifizierung funktioneller Kandidatengene

Ein in allen Teilprojekten durchzuführendes Arbeitspaket zu Projektbeginn war die Identifizierung funktioneller Kandidatengene. Zu diesem Zweck wurde am Institut für Tierzucht und Tierhaltung der CAU Kiel eine Bachelorarbeit (B.Sc. Anita Ehret) mit dem Titel „Datenbank-basierte Kandidatengensuche für equine Osteochondrose“ durchgeführt. Erste Ergebnisse daraus wurden 2009 auf einem Projektreffen in Göttingen präsentiert. Es wurden hauptsächlich Genfamilien und Gene identifiziert, die für Proteine der extrazellulären Knorpelmatrix codieren:

- *MMPs (Matrixmetalloproteinasen)*
- *ADAMTS (a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif)*
- *TIMPs (tissue inhibitors of MMPs)*

- *Kollagene*
- *Gene der BMP (bone morphogenetic protein) Familie*
- *AOAH (Acyloxyacyl hydrolase)*
- *MATN3 Matrilin 3)*
- *COMP (Cartilage oligomeric matrix protein)*
- *CILP (Cartilage Intermediate Layer Protein)*
- *ASPN (Asporin)*
- *ACVR1 (Aktivin A Receptor Type 1)*
- *CART (Cocaine- and Amphetamine-Regulated Transcript)*

2.1.3. Analyse von Populationsstrukturen

Im Rahmen der Masterarbeit von M.Sc. Danica Sindt mit dem Titel „Analysen von Verwandtschaftsstrukturen und röntgenologischen Befunden am Bewegungsapparat bei zur Körung vorgestellten deutschen Warmbluthengsten“ wurden Populationsstrukturen sowie der Einfluss von Inzucht auf das Auftreten von OC/OCD analysiert.

Grundlage der Pedigreeanalyse waren vom vit (Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung w.V.) in Verden zur Verfügung gestellte Abstammungsinformationen (n = 7512) von röntgenologisch untersuchten Warmbluthengsten, welche in den Jahren 2005 bis 2009 bei fünf verschiedenen deutschen Warmblutzuchtverbänden zur Körung vorgestellt wurden. Alle röntgenologisch untersuchten Hengste, geboren von 2003 bis 2007, wurden als Referenzpopulation definiert (n = 1091). Mit dem Programmpaket PEDIG (Boichard, 2002) wurden sowohl Inzuchtkoeffizienten als auch die absolute Anzahl an Gründern f , die effektive Anzahl an Gründern f_e , die absolute Anzahl an Ahnen, die effektive Anzahl an Ahnen f_a und die effektive Anzahl Gründergenome N_g geschätzt (Boichard et al., 1997). Die Berechnung der Inzuchtkoeffizienten erfolgte hierbei nach der Methode von Meuwissen und Luo (1992). Verwandtschaftskoeffizienten wurden über die Verwandtschaftsmatrix geschätzt.

Der durchschnittliche Inzuchtkoeffizient der Referenzpopulation lag bei 0,009. Insgesamt waren 49,5 % (n = 540) der Tiere ingezüchtet. Die geschätzten Inzuchtkoeffizienten variierten von 0 bis 0,15, wobei für Hengste mit röntgenologischen Befunden ein höherer maximaler Inzuchtkoeffizient als für befundfreie beobachtet wurde.

Die geschätzten Verwandtschaftskoeffizienten zwischen und innerhalb der Rassen lagen in einem Bereich von 0,0002 bis 0,0626. Insgesamt deuten die Ergebnisse an, dass auf Grund eines überregionalen Einsatzes von Hengsten ein genetischer Austausch zwischen den Warmblutrassen

stattgefunden hat. Hierbei konnte anhand von Pedigreekennzahlen eine Konzentration auf bevorzugte Hengstlinien festgestellt werden.

2.1.4. Durchführung von Assoziationsstudien für OC/OCD

Das wesentliche Ziel des Teilprojektes war die Kartierung merkmalsbeeinflussender Genorte im Pferdegenom. Zu diesem Zweck wurden nach erfolgter Genotypisierung der Hengste genomweite Assoziationsstudien für die oben genannten Phänotypen durchgeführt. Da auch Umwelteinflüsse und Körpermerkmale wie das Stockmaß einen starken Einfluss auf die Entstehung von OC/OCD haben können, müssen diese bei der Auswertung statistisch berücksichtigt werden. Zu diesem Zweck wurden von den beteiligten Zuchtverbänden weitere Daten zur Verfügung gestellt bzw. aus den Röntgenprotokollen extrahiert. Unter anderen betraf dies das Stockmaß, den begutachtenden Tierarzt und den Körjahrgang sowie das Alter zum Zeitpunkt der Röntgenuntersuchung. Außerdem wurde der Verband, in welchem das Tier zur Körung vorgestellt wurde, auf einen möglichen Einfluss hin untersucht. Um zu überprüfen, welche dieser Kovariablen und fixen Effekte für welches Merkmal von Belang sind und daher in den Assoziationsstudien statistisch berücksichtigt werden müssen, wurden zunächst logistische Regressionen durchgeführt. Tabelle 2 gibt einen Überblick der Einflussfaktoren für OCD.

Tabelle 2: Signifikante Einflussfaktoren für das Merkmal OCD. Mit einem „X“ gekennzeichnet sind die Kovariablen und fixen Effekte, welche in logistischen Regressionsanalysen einen signifikanten Einfluss auf das jeweilige Merkmal zeigten.

	Alter	Stockmaß	Körjahrgang	Untersucher	Zuchtverband
OCD _{Zehe}			X		
OCD _{Zehe-vorn}					
OCD _{Zehe-hinten}			X		
OCD _{Fessel}			X		X
OCD _{Fessel-vorn}	X				X
OCD _{Fessel-hinten}			X		X
OCD _{Sprunggelenk}	X				

Zusätzlich zu den oben genannten Effekten ist die Strukturierung der Versuchspopulation statistisch zu berücksichtigen. Der hier gewählte Ansatz hat zum Ziel, merkmalsbeeinflussende Genorte über verschiedene Verbände hinweg zu kartieren. Die einzelnen Verbände sind dabei als Subpopulationen aufzufassen. Systematische Allelfrequenzunterschiede zwischen den Subpopulationen (Stratifikation) können zu falsch-positiven Ergebnissen führen. Um diesem Sachverhalt Rechnung zu tragen, wurden sog. Hauptkomponenten (principal components, PC) verwendet, welche aus einer genomischen Verwandtschaftsmatrix abgeleitet werden. Zu diesem Zweck wurde das R-Paket GenABEL (Aulchenko et al., 2007) verwendet, das eine Implementierung des Hauptkomponentensatzes nach Price et al. (2006) umfasst. Abbildung 3 zeigt eine grafische Darstellung der ersten beiden Hauptkomponenten, die eine Beurteilung der Populationsstruktur zulässt.

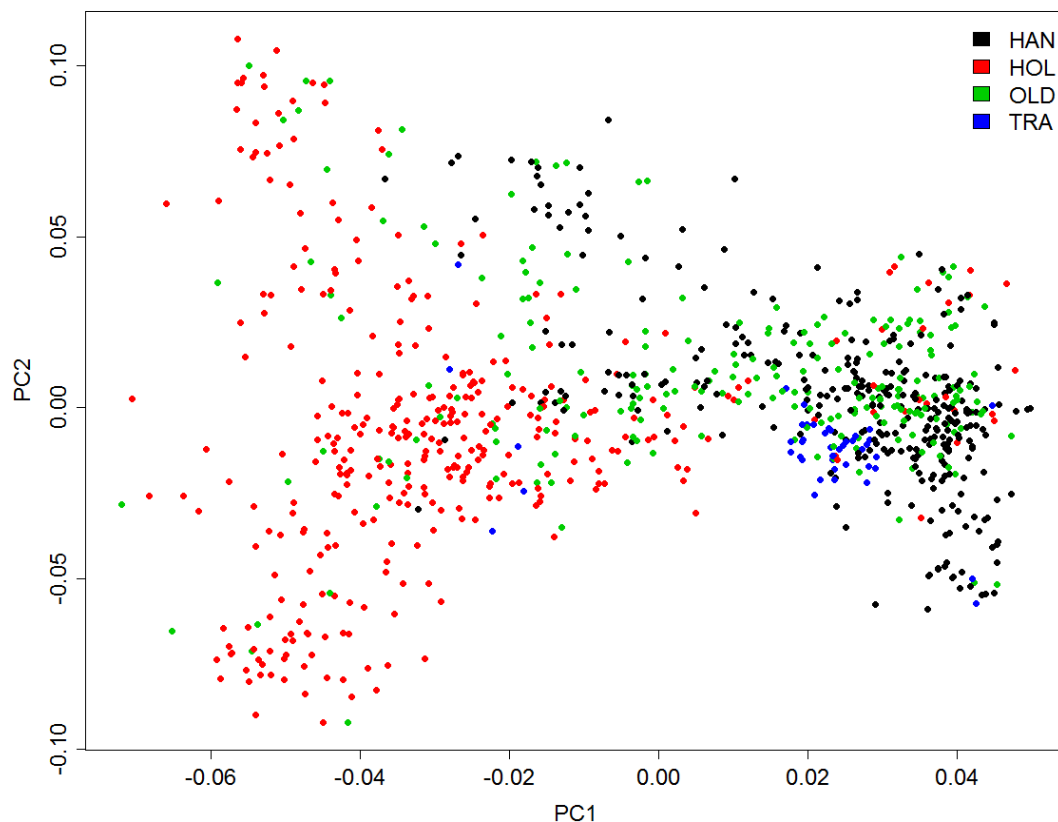


Abbildung 3: Populationsstruktur beim Deutschen Warmblut. Dargestellt sind die ersten beiden Hauptkomponenten. Die Farbkodierung gibt die Verbandszugehörigkeit wieder (HAN = Hannoveraner, HOL = Holsteiner, OLD = Oldenburger, TRA = Trakehner).

Die Genotypisierung der Tiere erfolgte am FBN Dummerstorf unter Verwendung des Illumina EquineSNP50 Bead Chip, der insgesamt 54.602 SNP-Marker umfasst. Im Vorwege der Analysen wurde mit diesen Daten zunächst eine Qualitätskontrolle mit allgemein üblichen Kriterien durchgeführt. Insgesamt 44.410 Marker wurden im Folgenden für die Assoziationsstudien verwendet.

Das herausragendste Ergebnis der Assoziationsstudien ist die Identifizierung eines merkmalsbeeinflussenden Hauptgenortes für OCD in der distalen Gliedmaße, d.h. im Fesselgelenk sowie in der gesamten Zehe auf Pferdechromosom 20 (ECA20, s. Abb. 4). Dies ist insofern bedeutsam, als dass bisherige Studien stets eine Vielzahl „kleinerer Merkmalsgenorte“ mit geringem Effekt fanden – die Identifizierung allgemeiner Anfälligkeitsgenorte gelang bisher nicht. Der große Erfolg der hier beschriebenen Studie ist auf folgende Punkte zurückzuführen:

- Mit annähernd 1.000 Tieren ist der Versuch sehr groß und zeigt eine bis dato einzigartige Testmächtigkeit.
- Die Analysen erfolgten über Verbände hinweg, so dass die gesamte deutsche Warmblutpopulation abgebildet wurde.
- Die Definition der Phänotypen wurde über Population hinweg standardisiert und vereinfacht, so dass eine robuste Datengrundlage geschaffen wurde.

Eine weiterführende Analyse der identifizierten Chromosomenregion erfolgte am FBN in Dummerstorf.

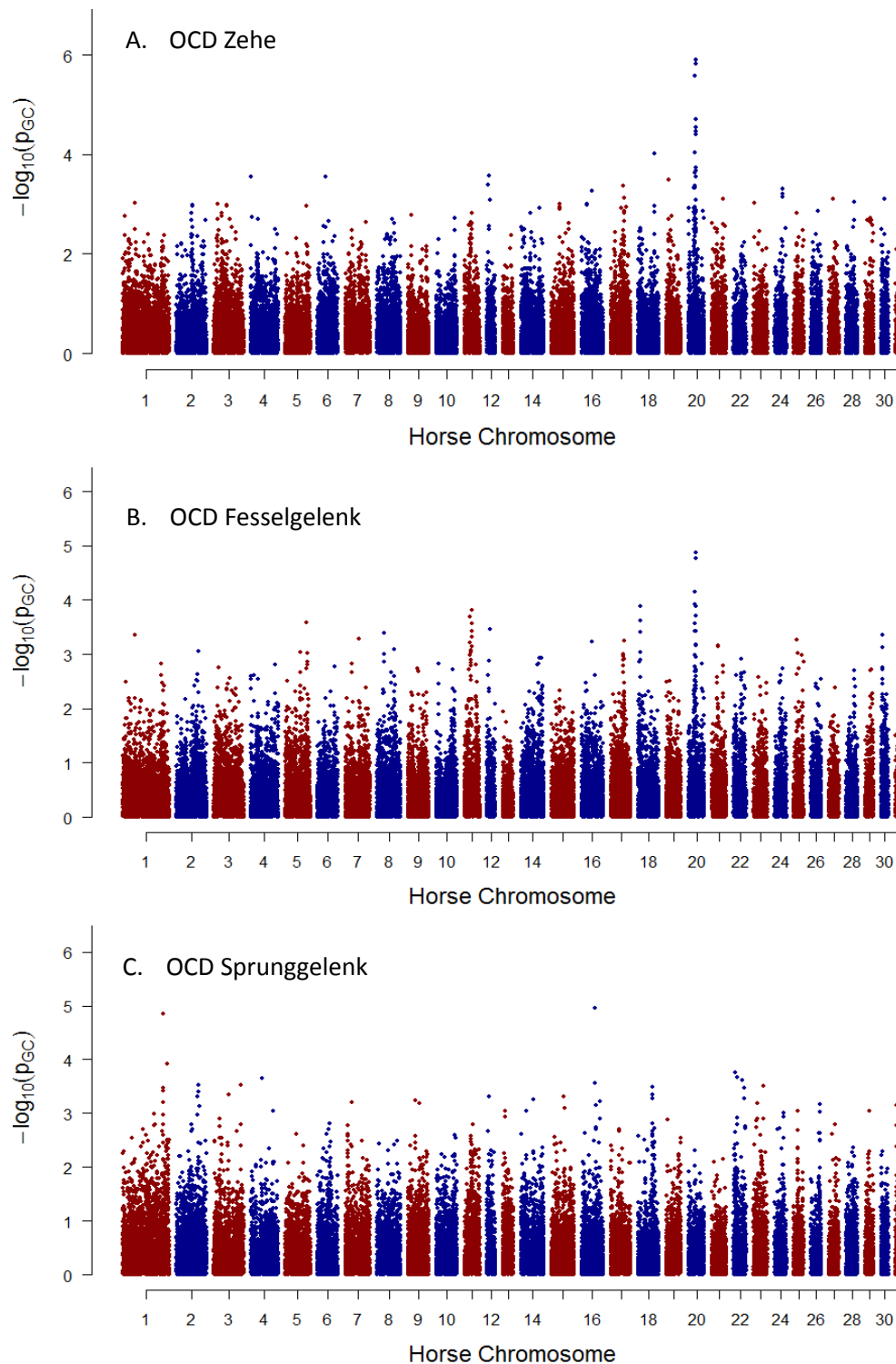


Abbildung 4: Ergebnisse der Assoziationsstudien für das Merkmal OCD. Dargestellt sind negativen dekadischen Logarithmen der p-Werte. Besonders hervorzuheben ist das Signal auf ECA20 (A/B).

2.1.5. Durchführung von Assoziationsstudien für das Merkmal Stockmaß

Zusätzlich zu den Arbeiten im Hinblick auf OC/OCD wurden die vorhandenen Daten für genomweite Assoziationsstudien genutzt, um Genorte mit einem signifikanten Einfluss auf das Stockmaß zu

kartieren. Dabei wurde ein Hauptgenort auf ECA3 identifiziert, der mit etwa 6% einen vergleichsweise großen Anteil der phänotypischen Varianz erklärt. Auf eine eingehende Darstellung wird an dieser Stelle verzichtet.

2.2. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die im Projekt durchgeführten Arbeiten hatten weitgehend Grundlagencharakter. Die von den im Projekt angestellten Mitarbeitern geleistete Arbeit und der entsprechende Aufwand in Bezug auf den Arbeitsplan und die Projektziele waren angemessen. Die vorliegenden Ergebnisse hätten nicht auf anderem Wege erzielt werden.

2.3. Darstellung des voraussichtlichen Nutzens, insbesondere der Verwertbarkeit der Ergebnisse im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die im Projekt durchgeführten Arbeiten hatten weitgehend Grundlagencharakter. Abhängig von den Ergebnissen der weiteren Analyse (Partner FBN) sind Erkenntnisse im Hinblick auf die Ätiopathogenese der OC/OCD zu erwarten, die auch modellhaft für die Humanmedizin sein könnten. Gleichzeitig sind diese Ergebnisse u.U. im Rahmen markergestützter Selektionsszenarien direkt in die Zuchtpraxis übertragbar. Gleichzeitig stellen die Arbeiten erste Schritte zur Implementierung der genomischen Selektion in der Pferdezucht dar, die derzeit ernsthaft diskutiert wird.

2.4. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Der Forschungsgegenstand des Vorhabens greift eine Fragestellung auf, die weltweit auch von anderen Arbeitsgruppen bearbeitet wird. Relevante zusätzliche Erkenntnisse sind allerdings während des Projektes nur in anderen Populationen ohne Bezug zum aktuellen Vorhaben bekannt geworden.

2.5. Veröffentlichungen

Originalarbeiten

Insgesamt sind aus dem Teilprojekt Kiel zwei Originalarbeiten erwachsen, die sich derzeit in der abschließenden Vorbereitungsphase befinden und in Kürze zur Veröffentlichung eingereicht werden. Weitere Arbeiten aus dem Teilprojekt sind nach dem endgültigen Abschluss der Arbeiten des Partners Dummerstorf zu erwarten.

- Tetens, J., Kühn, Chr., Thaller G. (2012): A genomewide association study in German Warmblood horses indicates LCORL/NCAPG as a candidate locus for withers height. Wird zeitnah bei *Animal Genetics* eingereicht.
- Tetens, J., Wulf, I.R., Gonzales-Lopez, V., Kühn, Chr., Thaller G. (2012): A genomewide association study for osteochondral fragments in German Warmblood horses. Wird zeitnah bei *PLoS ONE* eingereicht.

Bachelorarbeiten

- Ehret, Anita: Datenbank-basierte Kandidatengensuche für equine Osteochondrose. Institut für Tierzucht und Tierhaltung der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, 2009.

Masterarbeiten

- Sindt, Danica: Analysen von Verwandtschaftsstrukturen und röntgenologischen Befunden am Bewegungsapparat bei zur Körung vorgestellten deutschen Warmbluthengsten. Institut für Tierzucht und Tierhaltung der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, 2010.

Tagungsbeiträge

- WULF, I. R.; TETENS, J.; KÜHN, C.; THALLER, G. (2009): Das FUGATO-Plus Projekt – Aussichten für die Pferdezucht. Göttinger Pferdetage 09, 13-19
- SINDT, D.; HINRICHS, D.; WULF, I.R.; TETENS, J.; THALLER, G. (2011): Röntgenologische Befunde und deren Aussage. 6. Pferde-Workshop, DGfZ-Schriftenreihe 58, 103-111
- WULF, I.R.; KÜHN, C.; THALLER, G.; TETENS, J. (2011): Genomweite Assoziationsstudie für Osteochondrose beim Deutschen Warmblut. 6. Pferde-Workshop, DGfZ-Schriftenreihe 58, 118-125.

- SINDT, D.; WULF, I.R.; GONZALEZ-LOPEZ, V.; HINRICHS, D.; TETENS, J.; THALLER, G. (2011): Pedigreeanalyse von röntgenologisch untersuchten Warmbluthengsten. Vortragstagung der DGfZ und GfT Freising-Weihenstephan.
- TETENS, J.; WULF, I.R.; KÜHN, C.; THALLER, G. (2011): A genome-wide association scan for loci affecting osteochondrosis in German Warmblood horses. 62nd EAAP, Book of Abstracts No. 17, 396.

Wissenstransfer und Sonstige

- WULF, I.; TETENS, J.; KÜHN, C.; THALLER, G.: FUGATO-plus GENE-FL: Aufklärung genetischer Grundlagen der Fundamentstabilität – Teilprojekt Pferd. Trakehner Hengstmarkt 23.-26.10.08, Neumünster.
- SINDT, D.; HINRICHS, D.; TETENS, J.; THALLER, G.: Analysen von Verwandtschaftsstrukturen und röntgenologischen Befunden am Bewegungsapparat bei zur Körung vorgestellten deutschen Warmbluthengsten. Genetisch-Statistische Methoden der DGfZ, 28.09.-30.09.10, Fulda

2.6. Anhang: Veröffentlichungsverzeichnis des Berichtes

- AULCHENKO, Y. S., RIPKE, S., ISAACS, A. und VAN DUIJN, C. M. (2007): GenABEL: an R library for genome-wide association analysis. *Bioinformatics*, 23(10), 1294-1296.
- BOICHARD D., MAIGNEL L., VERRIER E. (1997): The values of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genet. Sel. Evol* 29, 5-23.
- BOICHARD, D. (2002): PEDIG: A fortran package for pedigree analysis suited for large populations. 7th World Congress on Genetics applied to livestock Production, Montpellier, 19-23 août 2002: paper 28-13.
- MEUWISSEN T.H.E und Z. LUO (1992): Computing inbreeding coefficient in large populations. *Genet. Sel. Evol.* 24: 305-313.
- PRICE, A. L., PATTERSON, N. J., PLENGE, R. M., WEINBLATT, M. E., SHADICK, N. A. und REICH, D. (2006): Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nature Genetics*, 38(8), 904-909.
- RURAL INDUSTRIES RESEARCH & DEVELOPMENT CORPORATION (RIRDC) (1997): RIRDC Short Report No12: Developmental Orthopaedic Disease in Thoroughbreds. (Barton ACT).
- VAN HOOGMOED, L. M., SNYDER, J. R., THOMAS, H. L. und HARMON, F. A. (2003): Retrospective evaluation of equine prepurchase examinations performed 1991-2000. *Equine Veterinary Journal*, 35(4), 375-381.
- WILLMS, F., RÖHE, R. und KALM, E. (1999): Genetische Analyse von Merkmalskomplexen in der Reitpferdezucht unter Berücksichtigung von Gliedmaßenveränderungen. *Züchtungskunde*, 71(5), 330-345.

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) <u>Schlussbericht</u>
3. Titel Gene-FL: Genetische Grundlagen der Fundamentstabilität bei Rind, Schwein, Pferd und Schaf; Teilprojekt Pferd: Aufklärung genetischer Prädispositionen für Osteochondrose beim Deutschen Warmblut	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Thaller, Georg Tetens, Jens	5. Abschlussdatum des Vorhabens August 2011
	6. Veröffentlichungsdatum
	7. Form der Publikation <u>Schlussbericht</u>
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Institut für Tierzucht und Tierhaltung Christian-Albrechts-Universität Olshausenstraße 40 D-24098 Kiel	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen FKZ: 0315135F
	11. Seitenzahl 16
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben 8
	14. Tabellen 2
	15. Abbildungen 4
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung <p>Fundamentprobleme gehören zu den Hauptursachen für eine reduzierte Nutzungsdauer, gestörtes Wohlbefinden und herabgesetzte Produktivität bei allen wichtigen Nutztierspezies. Beim Pferd stellt die Osteochondrose (OC) bzw. Osteochondrosis dissecans (OCD) mit rasseabhängigen Häufigkeiten bis zu 20% die wichtigste Erkrankung des Bewegungsapparates dar. Osteochondrose ist eine bei wachsenden Tieren unterschiedlicher Spezies vorkommende Störung der enchondralen Ossifikation. Beim Fortschreiten der Erkrankung kommt es zur Ablösung osteochondraler Fragmente, die dann als sog. Chips oder Gelenkmäuse frei in der Gelenkkapsel vorliegen. Diesen Zustand bezeichnet man als Osteochondrosis dissecans (OCD). Die Erkrankung ist multifaktoriell bedingt und weist eine klare genetische Komponente auf. Es wurden Heritabilitäten von bis zu 0,64 beim deutschen Reitpferd geschätzt. Gleichzeitig ist die Erkrankung von hoher ökonomischer Relevanz, die im Wesentlichen durch einen Wertverlust des Tieres bedingt ist. Dabei ist es unerheblich, ob es zu klinischen Symptomen kommt; bereits ein röntgenologischer Befund ohne äußere Symptomatik ist als Schadensereignis einzustufen. Hinzu kommen etwaige Behandlungs- und Operationskosten sowie Ausfälle. Wengleich bereits jetzt eine röntgenologische Untersuchung für die Zulassung zur Zucht notwendig ist, fehlen bislang detaillierte Informationen, die eine gezielte züchterische Strategie zur Bekämpfung der OC/OCD ermöglichen würden.</p> <p>Das Ziel des hier dargestellten Teilprojektes, das in enger Zusammenarbeit mit dem Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN) durchgeführt wurde, war daher die Kartierung und Identifizierung von Genorten mit einem signifikanten Einfluss auf die Entstehung von OC/OCD. Die Aufgabenstellung beinhaltete die</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sammlung, Aufbereitung und Systematisierung phänotypischer Befunde durch die Auswertung von routinemäßig erstellten Röntgenprotokollen, • Auswahl einer optimalen Kohorte für genomweite Assoziationsstudien / Kartierung von Merkmalsgenorten, • Durchführung von Assoziationsstudien für OC/OCD in den Gliedmaßengelenken, • Definition von Genomregion zur weiteren Analyse. <p>Das herausragendste Ergebnis der Assoziationsstudien ist die Identifizierung eines merkmalsbeeinflussenden Hauptgenortes für OCD in der distalen Gliedmaße, d.h. im Fesselgelenk sowie in der gesamten Zehe auf Pferdechromosom 20 (ECA20, s. Abb. 4). Dies ist insofern bedeutsam, als dass bisherige Studien stets eine Vielzahl „kleinerer Merkmalsgenorte“ mit geringem Effekt fanden – die Identifizierung allgemeiner Anfälligkeitgenorte gelang bisher nicht. Der große Erfolg der hier beschriebenen Studie ist auf folgende Punkte zurückzuführen:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mit annähernd 1.000 Tieren ist der Versuch sehr groß und zeigt eine bis dato einzigartige Testmächtigkeit. • Die Analysen erfolgten über Verbände hinweg, so dass die gesamte deutsche Warmblutpopulation abgebildet wurde. • Die Definition der Phänotypen wurde über Population hinweg standardisiert und vereinfacht, so dass eine robuste Datengrundlage geschaffen wurde. <p>Die im Projekt durchgeführten Arbeiten hatten weitgehend Grundlagencharakter. Abhängig von den Ergebnissen der weiteren Analyse sind Erkenntnisse im Hinblick auf die Ätiopathogenese der OC/OCD zu erwarten, die auch modellhaft für die Humanmedizin sein könnten. Gleichzeitig sind diese Ergebnisse u.U. im Rahmen markergestützter Selektionsszenarien direkt in die Zuchtpraxis übertragbar. Gleichzeitig stellen die Arbeiten erste Schritte zur Implementierung der genomischen Selektion in der Pferdezucht dar, die derzeit ernsthaft diskutiert wird.</p>	
19. Schlagwörter Pferd, Deutsches Warmblut, Osteochondrose, Osteochondrosis dissecans, Genomweite Assoziationsstudie	
20. Verlag	21. Preis