

Année 2019

DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE DES ROBES DU CHEVAL ET MALADIES ASSOCIÉES

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le 12 décembre 2019

par

Jennifer, Maud REY

Née le 3 février 1994 à Sèvres (Hauts-de-Seine)

Sous la direction de

Mme Lucie CHEVALLIER

Président	M. Frédéric COCHENNEC-PALIWODA	Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL
1^{er} Assesseur	Mme Lucie CHEVALLIER	Maître de Conférences à l'EnvA
2nd Assesseur	Mme Bénédicte GRIMARD-BALLIF	Professeur à l'EnvA

Liste des membres du corps enseignant



Directeur : Pr Christophe Degueurce

Directeur des formations : Pr Henry Chateau

Directrice de la scolarité et de la vie étudiante : Dr Catherine Colmin

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs C. Pilet, B. Toma, A.-L. Parodi, R. Moraillon, J.-P. Cotard, J.-P. Mialot & M. Gogny

Département d'Élevage et de Pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC)

Chef du département : Pr Grandjean Dominique - Adjoint : Pr Blot Stéphane

<p>Unité pédagogique d'anesthésie, réanimation, urgences, soins intensifs</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Fernandez Parra Rocio, Maître de conférences associée - Pr Verwaerde Patrick* <p>Unité pédagogique de clinique équine</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Audigé Fabrice - Dr Bertoni Lélia, Maître de conférences - Dr Bourzac Céline, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Coudry Virginie, Praticien hospitalier - Pr Denoix Jean-Marie - Dr Giraudet Aude, Praticien hospitalier - Dr Herout Valentin, Chargé d'enseignement contractuel - Dr Jacquet Sandrine, Praticien hospitalier - Dr Mespoules-Rivière Céline, Praticien hospitalier* - Dr Moiroud Claire, Praticien hospitalier <p>Unité pédagogique de médecine et imagerie médicale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Bencheikroun Ghita, Maître de conférences - Pr Blot Stéphane* - Dr Canonne-Guibert Morgane, Maître de conférences - Dr Freiche-Legros Valérie, Praticien hospitalier - Dr Maurey-Guénec Christelle, Maître de conférences 	<p>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Cléro Delphine, Maître de conférences - Dr Fontbonne Alain, Maître de conférences - Pr Grandjean Dominique* - Dr Maenhoudt Cindy, Praticien hospitalier - Dr Nudelmman Nicolas, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Fayolle Pascal - Dr Manassero Mathieu, Maître de conférences - Pr Viateau-Duval Véronique* <p>Discipline : cardiologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Chetboul Valérie <p>Discipline : ophtalmologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Chahory Sabine, Maître de conférences <p>Discipline : nouveaux animaux de compagnie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Pignon Charly, Praticien hospitalier
---	--

Département des Productions Animales et de Santé Publique (DPASP)

Chef du département : Pr Millemann Yves - Adjoint : Pr Dufour Barbara

<p>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Augustin Jean-Christophe* - Dr Bolnot François, Maître de conférences - Pr Carlier Vincent <p>Unité pédagogique de maladies réglementées, zoonoses et épidémiologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Crozet Guillaume, Chargé d'enseignement contractuel - Pr Dufour Barbara* - Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia - Dr Rivière Julie, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Adjou Karim - Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences* - Dr Delsart Maxime, Maître de conférences associé - Pr Millemann Yves - Dr Plassard Vincent, Praticien hospitalier - Dr Ravary-Plumioën Bérangère, Maître de conférences 	<p>Unité pédagogique de reproduction animale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Constant Fabienne, Maître de conférences* - Dr Denis Marine, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Dr Mauffré Vincent, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Arné Pascal, Maître de conférences - Pr Bossé Philippe* - Dr De Paula Reis Alline, Maître de conférences - Pr Grimard-Ballif Bénédicte - Dr Leroy-Barassin Isabelle, Maître de conférences - Pr Ponter Andrew - Dr Wolgust Valérie, Praticien hospitalier
---	--

Département des Sciences Biologiques et Pharmaceutiques (DSBP)

Chef du département : Pr Desquilbet Loïc - Adjoint : Pr Pilot-Storck Fanny

<p>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Boissady Emilie, Chargée d'enseignement contractuelle - Pr Chateau Henry - Pr Crevier-Denoix Nathalie - Dr Robert Céline* <p>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Boulouis Henri-Jean - Pr Eloit Marc - Dr Lagrée Anne-Claire, Maître de conférences - Pr Le Poder Sophie - Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences* <p>Unité pédagogique de biochimie, biologie clinique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Bellier Sylvain* - Dr Deshuilliers Pierre, Chargé d'enseignement contractuel - Dr Lagrange Isabelle, Praticien hospitalier - Dr Michaux Jean-Michel, Maître de conférences <p>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Cordonnier-Lefort Nathalie, Maître de conférences - Pr Fontaine Jean-Jacques - Dr Laloy Eve, Maître de conférences - Dr Reyes-Gomez Edouard, Maître de conférences* <p>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais) - Pr Desquilbet Loïc, (Biostatistique, Épidémiologie) - Dr Marignac Geneviève, Maître de conférences* 	<p>Unité de parasitologie, maladies parasitaires, dermatologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Dr Briand Amaury, Assistant d'Enseignement et de Recherche Contractuel (rattaché au DEPEC) - Dr Cochet-Faivre Noëlle, Praticien hospitalier (rattachée au DEPEC) - Pr Guillot Jacques* - Dr Polack Bruno, Maître de conférences - Dr Risco-Castillo Veronica, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Kohlhauser Matthias, Maître de conférences - Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences* - Pr Tissier Renaud <p>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences (Génétique) - Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Gilbert Caroline (Ethologie) - Pr Pilot-Storck Fanny (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Turet Laurent (Physiologie, Pharmacologie)* <p>Discipline : éducation physique et sportive</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. Philips Pascal, Professeur certifié
--	--

* responsable d'unité pédagogique

Professeurs émérites :

Mmes et MM. : Combrisson Hélène, Enriquez Brigitte, Panthier Jean-Jacques, Paragon Bernard.

Remerciements

Au Président du Jury de cette thèse, Professeur à la Faculté de Médecine de Créteil,
qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse. Hommage respectueux.

Au Docteur Lucie CHEVALLIER, Maître de Conférences à l'EnvA,
pour m'avoir fait l'honneur de me proposer ce sujet de thèse qui m'a passionné, pour votre soutien, et pour le temps passé à la correction de ce travail. Remerciements chaleureux.

Au Professeur Bénédicte GRIMARD-BALLIF, Professeur à l'EnvA,
pour votre relecture, vos conseils et vos suggestions, sincères remerciements.

A ma famille, pour avoir rendu possible la réalisation ce rêve.

A mon fiancé, pour ton soutien indéfectible, tu rends ma vie plus merveilleuse chaque jour.

A mes amis alforiens, Pierre, Mathieu, Anne-Cécile, Sarah, poulottes allet et soubigou, poulottes quentin et laroche, Brossard, Morabito, Manon, Ducluzeau, Chmura, Fanny, Devocelle... qui ont rendu ces cinq années inoubliables.

Table des matières

Liste des tableaux.....	4
Liste des photos.....	5
Liste des figures.....	11
Liste des abréviations	12
Introduction.....	15
Première partie : la mélanogenèse	17
1. Formation de la population mélanocytaire pendant le développement embryonnaire	17
2. Synthèse des pigments mélaniques	19
3. Transport et distribution des pigments.....	21
Deuxième partie : déterminisme génétique des robes.....	23
1. Les locus impliqués dans les robes de base.....	23
A. Locus Extension (gène <i>MC1R</i>).....	23
B. Locus Agouti (gène <i>Agouti</i> ou <i>ASIP</i>)	24
C. Un locus Brown ?	26
2. Les locus impliqués dans les dilutions	27
A. Locus Crème (gène <i>SLC45A2</i>).....	27
B. Locus Champagne (gène <i>SLC36A1</i>).....	34
C. Locus Z (Silver) (gène <i>PMEL17</i>)	35
D. Locus Dun (gène <i>TBX3</i>).....	37
E. Locus Mushroom.....	40
3. Les locus impliqués dans l'ajout de poils blancs et la panachure.....	41
A. Locus Gris (gène <i>STX17</i>)	41
B. Locus Rouan (<i>KIT</i>)	45
C. Locus « <i>Dominant White</i> » ou blanc dominant (gène <i>KIT</i>)	49
D. Locus Tobiano (gène <i>KIT</i>)	60
E. Le pattern Overo	62
a. Sous-pattern <i>Frame</i> (gène <i>EDNRB</i>).....	63

b.	Sous pattern <i>Calico</i>	64
c.	Sous pattern <i>Tovero</i>	65
d.	Sous-pattern <i>Medicine hat</i>	66
e.	Locus <i>Sabino</i> (gène <i>KIT</i> + autres gènes)	66
f.	Locus <i>Splashed White</i> (gènes <i>MITF</i> et <i>PAX3</i>).....	70
F.	Locus Léopard (gène <i>TRPM1</i>)	76
G.	Bilan sur le déterminisme génétique de l'adjonction de blanc dans la robe	83
4.	Autres adjonctions.....	85
5.	Bilan	88
Troisième partie : les maladies associées aux couleurs de robe		91
1.	Les affections oculaires multiples congénitales (MCOA) du cheval Silver.....	91
A.	Mode de transmission et locus impliqué	91
B.	Manifestations cliniques et histologiques	92
C.	Diagnostic	94
2.	Le syndrome du poulain lavande	95
3.	Mélanome et locus de grisonnement (<i>G</i>).....	97
A.	Manifestations cliniques	97
B.	Génétique et éléments de pathogénèse	99
C.	Diagnostic et traitement.....	99
4.	Vitiligo et locus de grisonnement (<i>G</i>).....	100
5.	Létalité embryonnaire et locus <i>Dominant White</i>	101
6.	L'overo et le syndrome léthal du poulain overo blanc (ou <i>Overo Lethal White Foal Syndrome</i>) 101	
A.	Manifestations cliniques et diagnostic.....	101
B.	Pathogenèse	102
C.	Pronostic et prévention.....	103
7.	Phénotype <i>Splashed White</i> et surdité.....	103
A.	Association entre phénotype <i>splashed white</i> et surdité	103
B.	Éléments de pathogénie.....	104
C.	Manifestations cliniques et diagnostic.....	104

8. Robe Léopard et affections oculaires	105
A. La cécité nocturne	105
a. Manifestations cliniques	105
b. Physiopathologie	106
c. Diagnostic	108
d. Gestion et prévention	109
B. L'uvéite récurrente.....	109
a. Manifestations cliniques	109
b. Physiopathologie	111
Conclusion	113
Liste des références bibliographiques	115

Liste des tableaux

Tableau 1 : Nomenclature française adoptée pour l'identification des équidés.....	16
Tableau 2 : Corrélations entre génotypes, phénotypes et mécanismes moléculaires expliquant des robes de base aux locus <i>Extension</i> et <i>Agouti</i>	26
Tableau 3 : Effets de la distribution des allèles au locus <i>Crème</i> sur les robes de base.	31
Tableau 4 : Effets de la distribution des allèles <i>Pearl</i> (C^{prl}) et <i>Cremello</i> (C^{cr}) sur les robes de base.	33
Tableau 5 : Effets de la distribution des allèles Dun sur le phénotype.	39
Tableau 6 : La diversité allélique du gène <i>KIT</i> responsable de la robe blanche ou <i>Dominant White</i> et ses effets phénotypiques.	53
Tableau 7 : Bilan de la variabilité du phénotype splashed-white en fonction du génotype	74
Tableau 8 : Classification clinique des mélanomes.	98

Liste des photos

Photo 1 : La frise des Petits chevaux de la grotte de Lascaux en France.....	15
Photo 2 : Poney Shetland noir présentant un grisonnement des poils de la face lié à l'âge.....	19
Photo 3 : Etalon Pur-Sang Arabe alezan (génotype <i>ee</i>) : aucun poil noir dans la robe.....	23
Photo 4 : Poney français de selle de robe baie, la robe est fauve avec les extrémités et les crins noirs. Source : photo personnelle.....	24
Photo 5 : Deux juments Frisons noires, leurs robes et leurs crins sont entièrement noirs.	25
Photos 6 : Selle Français bai porteur de l'allèle « <i>wild bay</i> », les extrémités noires ne dépassent pas le boulet. Source : photos personnelles.	25
Photo 7 : Jument alezan brûlé (« <i>liver chestnut</i> ») et son poulain.....	26
Photo 8 : Paso Péruvien de robe palomino (génotype <i>ee</i> ; $_ _$; $C^{cr}C^{+}$). Les crins sont plus clairs que les poils.....	28
Photo 9 : Quarter Horse de robe isabelle (<i>buckskin</i> en anglais) (génotype $E_ ; A_ ; C^{cr}C^{+}$).	28
Photo 10 : Jument Morgan de robe <i>smoky black</i> (génotype $E_ ; aa ; C^{cr}C^{+}$).	29
Photos 11 : Jument Morgan de robe <i>smoky black</i> à 2 ans (à gauche) et 3 ans (à droite).....	29
Photo 12 : Etalon Demi-Sang Arabe de robe <i>cremello</i> , (génotype <i>ee</i> ; $_ _$; $C^{cr}C^{cr}$). Les poils et les crins sont très clairs, la peau est rose et les yeux sont bleus.	29
Photos 13 : Etalon Pure Race Espagnole de robe perlino (génotype $Ee ; AA ; C^{cr}C^{cr}$).	30
Photos 14 : Etalon Poney Welsh Section B de robe <i>smoky cream</i> (génotype $EE ; aa ; C^{cr}C^{cr}$).	30
Photos 15 : Deux chevaux Pure Race Espagnole hétérozygotes pour C^{prl} présentant une robe baie illustrant la récessivité de l'allèle C^{prl}	31
Photos 16 : Etalon Pure Race Espagnole de robe <i>Amber Pearl</i> (homozygote pour « <i>pearl</i> » sur base baie : $EE ; Aa ; C^{prl}C^{prl}$).	32
Photo 17 : Etalon Pure Race Espagnole de robe <i>classic pearl</i> (homozygote pour « <i>pearl</i> » sur base noire : $EE ; aa ; C^{prl}C^{prl}$).	32
Photos 18 : Chevaux Pure Race Espagnole C^{cr}/C^{prl} . Leurs phénotypes sont proches de ceux de chevaux homozygotes pour C^{prl}	33
Photo 19 : Effet de la dilution champagne sur les robes de base.	34
Photo 20 : La peau des chevaux Champagne est claire et tachetée.	35
Photo 21 : Deux Comtois silver sur base noire (<i>black silver</i>) (génotype $E_ ; aa ; Z_$).	36

Photo 22 : Un cheval <i>silver</i> sur base baie (<i>silver bay</i>) dont les crins ont foncé avec l'âge (génotype $E_- ; A_- ; Z_-$).....	36
Photo 23 : La raie de mulot et la tête cap de maure sont deux marques primitives courantes chez le cheval <i>dun</i>	38
Photo 24 : Un Quarter Horse de robe <i>dun</i> présentant quelques zébrures sur les membres antérieurs et des crins plus clairs au centre de la crinière et de la queue.....	38
Photos 25 a, b et c : Coupes transversales de poils (hors raie de mulot si présente) de chevaux dun (a), non dun avec raie de mulot (b) et non dun (c).....	39
Photos 26 a et b : Coupes longitudinales de follicules pileux colorées à l'hématoxyline et l'éosine d'un cheval dun (a) et d'un cheval non dun (b). La mélanine est répartie de manière homogène chez le cheval non dun tandis qu'elle n'est présente que de manière asymétrique chez le cheval dun.	40
Photos 27 a et b : Deux poneys Shetland porteurs de la robe Mushroom.	40
Photo 28 : L'étalon Rocky Mountain Horse « Gone N Dun It » est <i>silver smoky grullo</i> ; sa robe de base est noire et il porte un allèle cremello, un allèle silver et un allèle dun ($EE ; aa ; C^{cr}C^+ ; Zz ; Dn ndn$).	41
Photo 29 : Cheval Demi-Sang Arabe gris.....	42
Photo 30 : Cheval de selle gris, sa peau noire permet de le différencier d'un véritable cheval blanc.	42
Photo 31 : Hongre Selle Français de 3 ans gris sur robe de base alezane.....	43
Photo 32 : Poney Français de Selle gris truité. Les truitures sont de petites taches pigmentées qui pourraient être les manifestations d'événements somatiques d'inactivation de l'allèle « gris ».....	44
Photo 33 : Poney Connemara présentant un grisonnement très tardif (> 14 ans)	45
Photo 34 : Pattern rouan sur base baie. Les poils blancs sont mélangés à la robe de base, et la densité varie selon les individus et les saisons.	45
Photo 35 : Jument Quarter-Horse noir granité (<i>blue roan</i> en anglais) : le pattern épargne bien la tête et les membres, ce qui laisse apparaître la robe de base.....	46
Photos 36 a, b et c : Poney Français de Selle bai granité (<i>red roan</i> en anglais) à 3 saisons différentes : au printemps, le pattern rouan est très prononcé et donne une robe extrêmement claire (a), en été où le pattern est moins prononcé (b) et en hiver où le pattern disparaît presque complètement (c).	46
Photo 37 : Cheval alezan granité (pattern rouan sur une base alezane), ou « aubère » selon l'ancienne nomenclature.	47
Photo 38 : Percheron <i>frosty roan</i> ; des poils blancs parsèment son chanfrein et des crins blancs sont présents dans sa crinière et sa queue.....	49
Photo 39 : Ponette de selle de robe blanche.....	49

Photo 40 : Pouliche Trotteur Italien nommée « Via Lattea », portant une robe entièrement blanche. Sa peau est rose et ses yeux sont noirs.....	50
Photo 41 : Poulain Franches-Montagnes portant une robe <i>dominant white</i>	50
Photos 42 : Biopsies cutanées d'un cheval coloré (à gauche) et d'un cheval <i>dominant white</i> (DW) (à droite). La mélanine apparaît en marron par marquage immunohistochimique	51
Photos 43 a et b : Effet subtil de l'allèle <i>W20</i> sur la pigmentation : les marques en tête et les balzanes sont discrètement plus étendues.....	52
Photos 44 a et b : Exemple de l'effet « augmentateur de blanc » de l'allèle <i>W20</i>	52
Photos 45 : Cheval et poney présentant un pattern tobiano sur base noire et alezane.	61
Photo 46 : Cheval ONC présentant un pattern tobiano sur une robe de base baie.....	61
Photo 47 : Jument American Paint Horse présentant un pattern overo (sous type <i>frame blend</i>) sur une base baie.	63
Photo 48 : Cheval présentant le sous-pattern frame.	64
Photo 49 : Cheval présentant le sous pattern calico.....	65
Photo 50 : Ce cheval présente un pattern tovero ; le pattern tobiano et le sous-pattern frame se superposent et ne sont plus reconnaissables.....	65
Photo 51 : Un cheval de race American Paint Horse présentant le sous-pattern <i>medecine hat</i> sur une robe de base noire.	66
Photo 52 : Cet étalon présente le pattern sabino sur une robe de base alezane.	67
Photos 53 : Hongre Selle Français de robe alezane portant un pattern sabino très discret.	67
Photo 54 : Cheval Clydesdale présentant un pattern sabino extensifs.	68
Photo 55 : Cheval alezan sabino <i>SB1/sb1⁺</i>	68
Photo 56 : Jument sabino (<i>SB1/sb1⁺</i>) et son poulain sabino-white (<i>SB1/SB1</i>).	69
Photos 57 a et b : Chevaux Clydesdale présentant un pattern sabino d'origine polygénique.	69
Photos 58 : American Paint Horse présentant un pattern <i>splashed white</i> très extensif sur une base baie. Il présente également un œil bleu.	70
Photos 59 A, B et C : Chevaux de phénotype <i>splashed white</i> hétérozygotes pour l'allèle <i>SW2</i> (<i>PAX3^{C70Y}</i>).	71
Photo 60 : Cheval au phénotype <i>splashed white</i> hétérozygote pour l'allèle <i>SW1</i> (<i>MITF^{prom1}</i>)	71
Photos 61 A, B et C : Chevaux homozygotes pour l'allèle <i>SW1</i> (<i>MITF^{prom1}</i>).	72
Photos 62 : L'hétérozygotie composite <i>SW1 SW2</i> conduit à une dépigmentation sensiblement plus étendue.....	72

Photo 63 : L'homozygotie pour <i>SW1</i> associée à une copie de l'allèle <i>SW2</i> est à l'origine d'une robe entièrement blanche et à de la surdité.	72
Photo 64 : Phénotype <i>splashed white</i> chez un cheval hétérozygote pour l'allèle <i>SW3</i> (<i>MITF</i> ^{C280Sfs*20}).	73
Photo 65 : L'hétérozygotie composite <i>SW2/SW3</i> conduit à un cheval de robe totalement blanche.	73
Photo 66 : Cheval de race Appaloosa présentant un pattern complexe léopard potentiellement associé à un nouveau pattern <i>splashed white</i> à l'origine de cette liste large et des yeux partiellement bleus. Les chevaux issus de la même famille portent cette même liste et l'allèle <i>PAX3:P32R</i>	74
Photo 67 : Robe macchiato chez un étalon Franches-Montagnes. Il présente à la fois une dépigmentation de type <i>splashed white</i> et une dilution de la robe de base baie.	75
Photo 68 : Robe totalement blanche chez un poulain issu de deux parents bais. Le poulain est hétérozygote pour une mutation de novo du gène <i>MITF</i> (<i>MITF</i> ^{244Gf}), dont il est le premier et seul porteur actuellement.	76
Photo 69 : Robe capée tachée (<i>spotted blanket</i>) chez un hongre ONC de 4 ans.	77
Photo 70 : Ce hongre Knabstrup porte une robe bai léopard.	77
Photo 71 : Le varnish roaning est très visible chez cet Appaloosa <i>varnish roan</i> : les zones épargnées par les poils blancs sont celles proches du contact osseux (la tête, les membres, la pointe de la hanche ...).	78
Photos 72 A à E : Les caractéristiques associées au pattern Léopard sont la sclère blanche (A), les sabots striés (B), la peau mouchetée en zone uro-génitale (C), sur bout du nez (D) et autour des yeux (A), le <i>varnish roaning</i> (E).	78
Photos 73 : Ultrastructure de mélanocytes de chevaux <i>lp/lp</i> et <i>LPLP</i> observée au microscope électronique (échelle : 2 µm). Les mélanosomes du cheval <i>LPLP</i> présentent une morphologie anormale.	80
Photos 74 : Influence du locus modificateur <i>PATN1</i> sur le pattern Léopard. <i>PATN1</i> est dominant et ne s'exprime qu'en présence d'un allèle <i>LP</i> , dont il augmente l'expression et l'étendue de la dépigmentation.	81
Photo 75 : La présence du complexe léopard est peu évidente chez cette jument Gypsy Cob qui présente également un pattern sabino. Celui-ci réduit la taille et le nombre de taches induites par le complexe léopard.	82
Photo 76 : <i>White ticking</i> chez un poney Français de Selle : quelques crins à la base de la queue sont blancs ; il présente également quelques poils blancs sur les flancs.	83
Photo 77 : Pur-Sang arabe bai rabicano (ou <i>white ticking</i>) ; ses flancs sont parsemés de poils blancs et la base de sa queue est blanche.	83
Photo 78 : Le pattern <i>birdcatchers spots</i> consiste en de multiples petites taches blanches et rondes disséminées sur le corps du cheval. Il ne s'agit pas du complexe léopard ni de vitiligo.	84

Photo 79 : Ce poney Exmoor présente une robe bai pangaré (<i>mealy bay</i>) : les zones ventrales, le tour des yeux et le bout du nez sont très clairs.	85
Photo 80 : Selle Français bai cerise. La nuance de robe est très rougeâtre par rapport au poney de selle français bai de la photo 4.	86
Photo 81 : Cet étalon présente une robe isabelle charbonné et pommelée (<i>sooty buckskin</i>),	86
Photos 82 : Ce cheval de selle (à gauche) et ces deux juments Haflinger (à droite) sont alezans crins lavés.	87
Photos 83 : Chevaux bringés. Ce pattern peut survenir sur n'importe quelle robe et est composé de rayures verticales.	87
Photo 84 : Selle Français alezan présentant du <i>Bend or spot</i>	88
Photo 85 : Kystes ciliaires temporaux bilatéraux de grande taille chez une pouliche Rocky Mountain Horse.	92
Photo 86 : Kyste ciliaire temporal visible dans l'ouverture de la pupille.	93
Photos 87 : Œil droit vu de profil d'un Rocky Mountain Horse présentant une <i>cornea globosa</i> (a) et d'un autre Rocky Mountain Horse sain d'âge comparables.	93
Photo 88 : Hypoplasie de l'iris caractérisée par des strates, des granules iriens aplatis en circonférence et une discorie de la pupille.	94
Photo 89 : L'œil droit normal d'un Comtois (a) et son image échographique normale (b) comparé à l'œil droit d'un autre Comtois présentant une <i>cornea globosa</i> caractéristique (c) et l'image échographique associée qui révèle une augmentation de la profondeur de la chambre antérieure (d).	95
Photos 90 : Deux symptômes caractéristiques du LFS : le pelage pâle et l'opisthotonos.	96
Photos 91 : Présentations cliniques du mélanome équin en régions périanale (a et c) et parotidienne (b).	98
Photos 92 : Vitiligo chez une jument et un poney gris. La peau dépigmentée est rose et principalement localisée au bout du nez.	100
Photos 93 : Vitiligo chez une jument Trotteur Français de robe baie.	100
Photo 94 : Poulain atteint de l'OLWS. Il présente une robe entièrement blanche et des signes de coliques dans les 12 premières heures de vie qui lui sont fatales.	102
Photo 95 : Strabisme dorsomédial chez un cheval de robe <i>few spots leopard</i> atteint de CSNB. .	106
Photo 96 : Strabisme dorso-médial bilatéral chez un cheval Knabstrup bai léopard.	106
Photo 97 : Photo d'un cheval en phase inflammatoire d'uvéite récurrente. On observe un épiphora, un œdème cornéen et un blépharospasme qui traduit une douleur oculaire importante.	110

Photo 98 : Stade chronique et terminal d'uvéïte récurrente chez un cheval de race Appaloosa, qui présentait une forme insidieuse non douloureuse. Une phtisie, un myosis marqué et des synéchies sont notamment observables.	110
Photo 99 : Dégénérescence des granules iriens et hypopigmentation de la bordure de l'iris. (Source : Gilger, 2011)	111
Photos 100 : Lésions rétinienne très suggestives d'uvéïte récurrente : à gauche en forme d'ailes de papillons, à droite en « <i>bullet holes</i> ».	111

Liste des figures

Figure 1 : Le développement mélanocytaire chez les mammifères.	17
Figure 2 : Implication de différents gènes de régulation de la mélanogenèse.....	18
Figure 3 : Organisation des populations mélanocytaires dans le follicule pileux.....	18
Figure 4 : Effet du vieillissement sur le poil et ses populations mélanocytaires.	19
Figure 5 : Effets des interactions entre le récepteur MC1R et la protéine Agouti sur la synthèse de mélanine.	20
Figure 6 : Protéines et gènes impliqués dans le processus de mélanogenèse.....	21
Figure 7 : Hypothèse de mécanisme à l'origine de la robe grise chez le cheval.	44
Figure 8 : Effets des mutations des gènes <i>MITF</i> , <i>KIT</i> , <i>PAX3</i> et <i>EDNRB</i> sur la mélanogenèse et sur le développement et le fonctionnement mélanocytaire.	48
Figure 9 : Exemples de chevaux de phénotype sabino1 selon les critères établis par Geurts.	66
Figure 10 : Illustration du continuum du complexe léopard.....	76
Figure 11 : Images modélisées représentatives du pourcentage de poils blancs en fonction de la robe de base, à partir d'une normalisation et binarisation de données chez des chevaux de race Noriker.....	82
Figure 12 : (A) Cheval bai granité tobiano. (B) Il est nécessairement hétérozygote <i>Rnm</i> ⁺ ; <i>Toto</i> ⁺ puisque ce sont deux allèles du gène <i>KIT</i>	84
Figure 13 : Vue d'ensemble de la mélanogénèse et des gènes mutés à l'origine de la variation de la pigmentation de la robe chez le cheval.	89
Figures 14 A, B et C : Potentiels Auditifs Evoqués du tronc cérébral.....	105
Figure 15 : Fonctionnement des voies visuelles en présence de lumière ou dans l'obscurité chez le cheval sain et le cheval atteint de cécité nocturne non évolutive congénitale.....	107
Figure 16 : Electrorétinogrammes effectués après adaptation à l'obscurité d'un cheval sain et d'un cheval atteint de CSNB.....	108

Liste des abréviations

α MSH : *α Melanocyte-Stimulating Hormone*

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

CCDL : *Coat Color Dilution Lethale*

CSNB : *Congenital Stationary Night Blindness*

DCT : DOPAchrome tautomérase

EDNRB : *Endothelin receptor type B*

FFE : Fédération Française d'Equitation

IFCE : Institut Français du Cheval et de l'Equitation

INVS : inversine

KIT : *proto-oncogene receptor tyrosine kinase*

kb : kilobases

LFS : *Lavender Coat Syndrome*

MCOA : *Multiple Congenital Ocular Affections*

MCR1 : *Melanocortin Receptor 1*

MIFT : *Microphthalmia associated transcription factor*

MLSN1 : *Melastatin 1*

MYO5A : Myosine 5A

NR4A3 : *Nuclear Receptor subfamily 4, group A, member 3*

ONC : Origine Non Constatée

OWLS : *Overo White Lethal Syndrome*

PAX3 : *Paired box gene 3*

pb : paires de bases

PMEL17 : *Premelanosome protein 17*

SIRE : Système d'Information Relatif aux Equidés

SLC : *Solute Carrier*

SNP : *Single Nucleotide Polymorphism*

STX17 : Syntaxine 17

TBX3 : *T-box transcription factor*

TRPM1 : *Transient Receptor Potentiel Cation Channel Subfamily M Member 1*

TXNDC4 : *Thioredoxin Domain-Containing 4'*

TYRP1 : *Tyrosine-related protein 1*

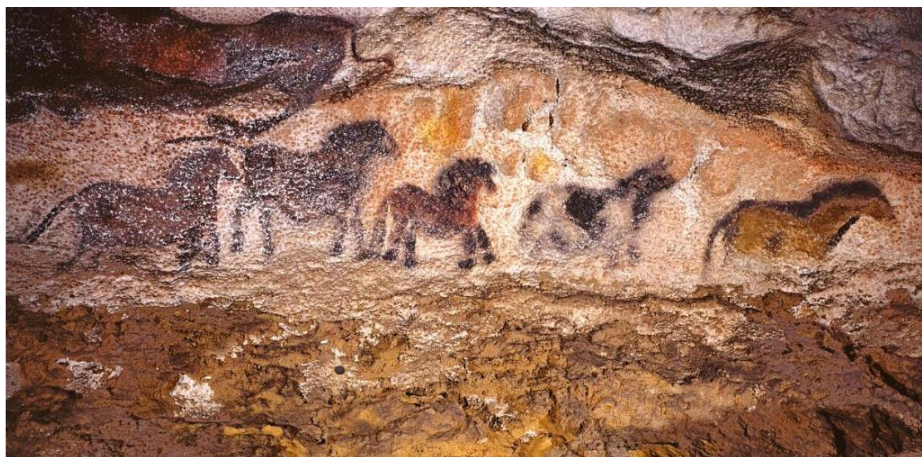
URE : *Uveitis Recurrent Equine*

Introduction

Les robes des chevaux fascinent l'Homme depuis la préhistoire : des peintures rupestres de chevaux aux robes variées (Photo 1) existent dans de nombreuses grottes (Wutke *et al.*, 2016).

Photo 1 : La frise des Petits chevaux de la grotte de Lascaux en France

(Source : <http://archeologie.culture.fr/lascaux/fr/mediatheque/diverticule-axial-5>)



Les chevaux ont été domestiqués autour de 4000 ans avant-JC. L'étude des génotypes de dépouilles anciennes de chevaux européens a permis de mettre en évidence quatorze robes. Les chevaux pré-domestiques présentaient seulement trois robes différentes : le bai, le noir et le léopard. Les autres robes sont apparues peu après la domestication : le tobiano, l'alezan, le sabino et les dilutions (crème, silver) (Wutke *et al.*, 2016). La robe dun n'a pas pu être identifiée en raison de la découverte très récente de la mutation génétique à son origine ; cependant, les représentations dans les grottes suggèrent que cette dilution est répandue chez les chevaux préhistoriques (Pruvost *et al.*, 2011).

Pendant la Préhistoire et l'Antiquité, les robes diluées et tachetées étaient courantes. Mais au Moyen-Âge, la plupart des chevaux présentait simplement une des trois robes de base, en particulier l'alezan, tandis que les robes diluées et les panachures sont devenues très rares. Le symbolisme religieux y a certainement joué un rôle ; en effet dans « Apocalypse of St. John », le cavalier victorieux monte un cheval blanc ou tacheté, le cavalier de la Famine un cheval noir, le cavalier de la Mort un cheval bai et le cavalier de Guerre un cheval alezan. Le cheval blanc ou tacheté était alors l'apanage des rois. Mais pendant la seconde moitié du Moyen Âge, l'histoire a été déformée, et le cavalier victorieux a été remplacé par le cavalier de la Peste, rendant probablement non populaires les robes tachetées. Par ailleurs, les robes diluées et tachetées étaient probablement des inconvénients militaires : elles représentaient des cibles plus visibles pour l'ennemi. L'alezan était la robe la plus répandue, ce qui est cohérent avec les guerres omniprésentes et le caractère courageux populairement associé à cette robe. Il existe cependant un biais à cette observation : les chevaux étudiés proviennent de tombeaux nobles et ne représentent pas les chevaux de travail du tiers-état (Wutke *et al.*, 2016).

Aujourd'hui encore, les robes du cheval continuent de fasciner. Plusieurs races sont même nommées d'après leur robe (Wutke *et al.*, 2016) : l'American Paint Horse pour ses robes à panachure, le Bai de Cleveland, l'American Cream Draft, le Spotted British Pony pour son complexe

léopard ... Parmi les chevaux de sport, le gris est une robe très appréciée. En revanche, l'alezan si populaire au Moyen-Âge, est peu souhaité. Les robes de couleur (diluées et/ou panachées) sont à la mode chez les cavaliers amateurs et de loisirs, notamment les chevaux de races Irish Cob, Gypsy Cob ou Gypsy Vanner. Cependant certaines robes, très recherchées, sont associées à des maladies diverses, et la sélection humaine de ces robes sélectionne donc aussi ces maladies. Elles sont par conséquent difficiles à éradiquer, mais leur connaissance permet de prendre des mesures pour les prévenir.

Le séquençage complet du génome du cheval en 2009 (Wade *et al.*, 2009) a permis de réaliser de grandes avancées dans la découverte de la génétique des robes et de mettre au point des tests génétiques. Il en existe pour quasiment chaque allèle et ils sont proposés par plusieurs laboratoires.

Enfin, les robes sont soumises à des nomenclatures différentes selon les pays. Pendant très longtemps en France, la nomenclature est restée cantonnée au traditionnel BANC-BIS-GAL, que l'on peut encore trouver dans les livres de théorie des Galops de la FFE : les robes simples BANC (Blanc, Alezan, Noir et Café au lait), les robes composées BIS (Bai, Isabelle et Souris) et les robes mélangées GAL (Gris, Aubère et Louvet), suivies des robes sans catégorie (rouan, palomino, pie et léopard). Ces dénominations permettent de décrire la plupart des robes, notamment les plus classiques en Europe, mais de manière grossière et partielle, sans aucun fondement génétique. Depuis quelques années, une nomenclature plus détaillée est employée par le SIRE et les identificateurs de chevaux (Tableau 1). Elle conserve néanmoins quelques imprécisions, en particulier concernant les robes diluées et à panachure.

Tableau 1 : Nomenclature française adoptée pour l'identification des équidés
(Source : SIRE IFCE, 2019)

	Robe de base	Nuance	Mélange de poils	Panachures	Adjonctions
Famille du NOIR	Noir	-	(Faiblement) mélangé	Pie, tacheté, léopard, cape, marmoré	Crins lavés, crins argentés, crins mélangés, pommelé, floconné
	Noir pangaré	-			
	Gris fer	-	-		
Famille du BAI	Bai	Clair, foncé, cerise	(Faiblement) mélangé, fumé	Pie, tacheté, léopard, cape, marmoré	Toutes
	Isabelle	Clair, foncé	(Faiblement) mélangé		Toutes
	Louvet	Clair, foncé			
	Souris	-	(Faiblement) mélangé, fumé		Toutes
	Rouan	Clair, foncé	-		Toutes
Famille de l' ALEZAN	Alezan	Clair, foncé, cuivré	(Faiblement) mélangé, fumé	Pie, tacheté, léopard, cape, marmoré	Toutes
	Alezan brûlé	-			Toutes sauf crins lavés ou argentés
	Café au lait	Clair, foncé			
	Palomino	Clair, foncé, cuivré			Toutes
	Aubère	Clair, foncé	-		Toutes
Famille des AUTRES	Blanc	-	-	-	-
	Gris	Clair, foncé, truité, moucheté		Pie, tacheté, léopard, cape, marmoré	Toutes
	Crème	Cremello, perlino	(Faiblement) mélangé,		Toutes sauf raie de mulet, bande cruciale ou scapulaire, zébrures
	Chocolat	-	Toutes		

La nomenclature anglosaxonne est la plus précise et la plus proche de la génétique (Sponenberg et Bellone, 2017) mais est difficile pour quelqu'un de non initié.

Après un rappel sur le processus de la mélanogénèse, cette thèse s'attache dans un premier temps à décrire les différentes robes et à en détailler le déterminisme génétique ainsi que

les mécanismes moléculaires et cellulaires. Les différentes affections directement liées aux locus de couleur seront ensuite exposées.

Première partie : la mélanogenèse

La mélanogenèse est un terme qui désigne la formation du pigment cutané, la mélanine. Cette partie se consacre à détailler ce processus afin de le mettre en perspective par la suite avec les mutations génétiques expliquant les différentes robes et maladies associées chez le cheval.

1. Formation de la population mélanocytaire pendant le développement embryonnaire

La lignée des mélanocytes est issue des cellules de la crête neurale, tout comme les neurones et les cellules gliales. Une partie des mélanocytes dérivent de cellules qui migrent tardivement en direction dorsolatérale entre l'ectoderme et les somites durant le développement du derme, l'autre partie dérive des précurseurs des cellules de Schwann et des mélanocytes ayant suivi une migration ventrale. Ces deux types de cellules de la crête neurale deviennent des précurseurs bipotents mélanoblastes/cellules gliales. Ces mélanoblastes colonisent les follicules pileux, puis certains se différencient en mélanocytes, producteurs de mélanine, tandis que d'autres se dédifférencient et forment des mélanocytes souches dans les bulbes des follicules (Figure 1) (Mort *et al.*, 2015).

Le facteur de transcription *MITF* (*microphthalmia associated transcription factor*) joue un rôle central dans la régulation de l'identité des mélanocytes. Ainsi l'absence de gène *MITF* fonctionnel rend l'individu incapable de former des mélanocytes. Les gènes *PAX3* et *SOX10* sont des stimulateurs de la transcription de *MITF* (Figure 2). Les mélanocytes une fois formés acquièrent l'expression de *MITF* et de *KIT* (Mort *et al.*, 2015).

Figure 1 : Le développement mélanocytaire chez les mammifères.

(Figure adaptée d'après Mort *et al.*, 2015)

MITF est un gène clé de la régulation de l'identité des mélanocytes, *SOX10* et *PAX3* sont des gènes stimulateurs de sa transcription. Le gène *KIT* joue un rôle essentiel dans le développement et la survie des mélanocytes ainsi que dans la mélanogenèse. *TYR* (tyrosinase) est un gène fondamental de la mélanogenèse, et *DCT* intervient dans la synthèse de l'eumélanine.

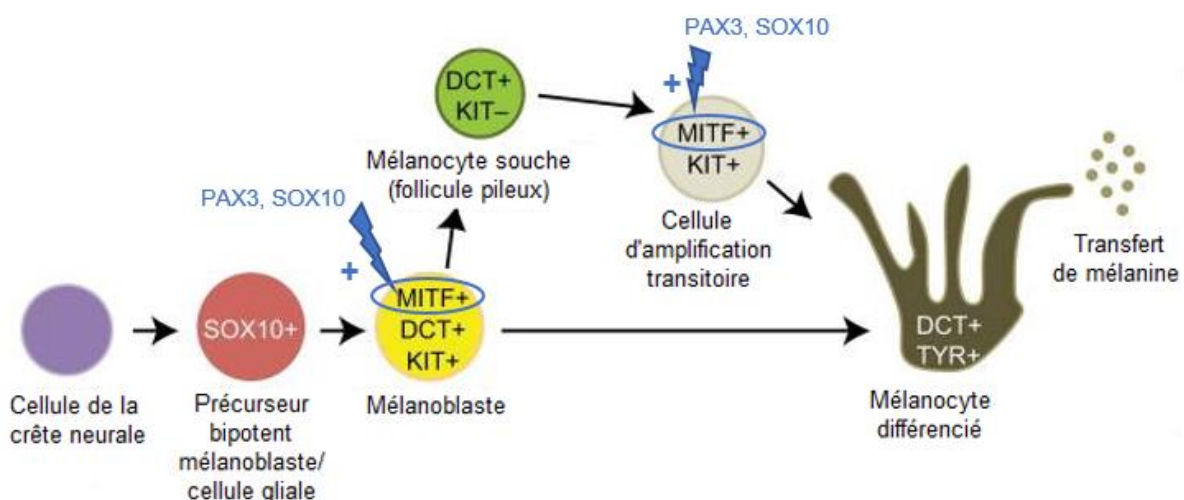
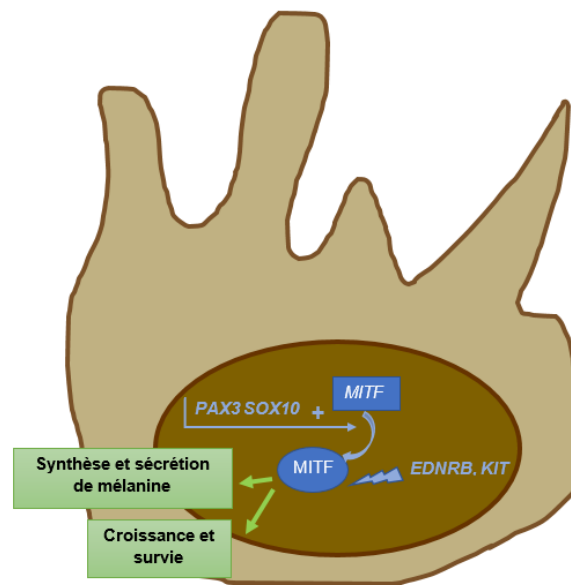
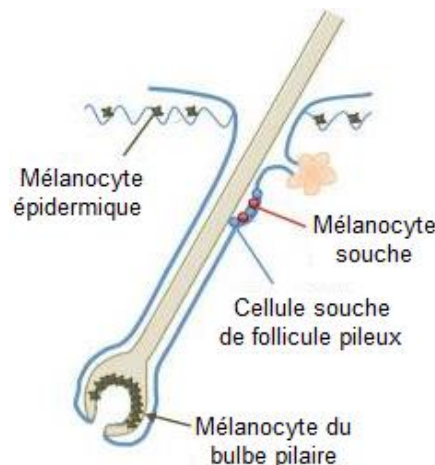


Figure 2 : Implication de différents gènes de régulation de la mélanogénèse.
(Composition personnelle d'après les données de Mort *et al.*, 2015)



Une fois le développement et la migration des mélanocytes établis, les animaux maintiennent et régénèrent leur pigmentation grâce aux mélanocytes souches qui sont associés aux follicules pileux dans une niche de la région du bulbe. Ils constituent un réservoir de renouvellement pour les mélanocytes folliculaires et les mélanocytes épidermiques à proximité (Mort *et al.*, 2015).

Figure 3 : Organisation des populations mélanocytaires dans le follicule pileux.
(Source : Mort *et al.*, 2015)



Les mélanocytes souches sont similaires à des mélanocytes quiescents, ils ont alors une expression de *MITF* et de *KIT* extrêmement réduite et un taux de prolifération lent. Cependant, le gène *KIT* est tout aussi indispensable à la survie des mélanocytes vrais qu'à celle des mélanocytes souches (Mort *et al.*, 2015).

Les mélanocytes souches restent une population limitée malgré leur pouvoir de renouvellement. La dégénérescence par différenciation ectopique de ces mélanocytes souches conduit à une perte du *pool* cellulaire et à terme à une dépigmentation : les poils deviennent blancs (Figure 4). Ainsi chez l'Homme et la Souris, le déclin progressif du nombre de mélanocytes souches folliculaires avec l'âge résulte en un grisonnement des poils. Chez le cheval le grisonnement lié à l'âge est limité et relativement tardif (Photo 2).

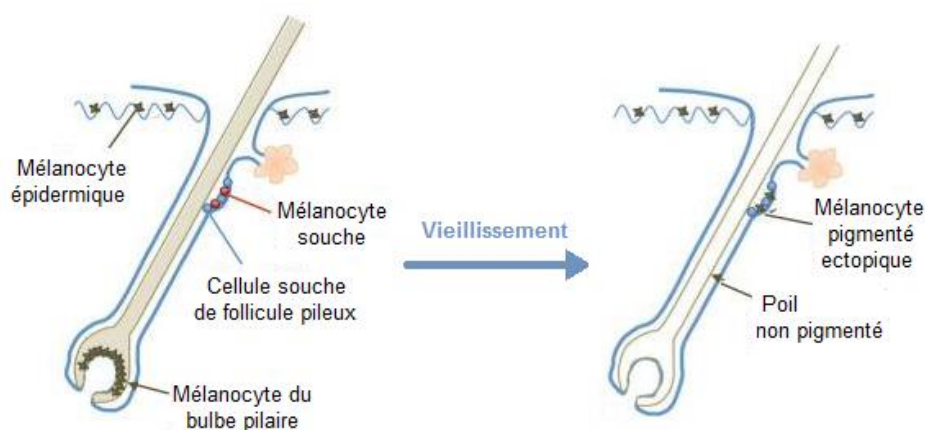
Photo 2 : Poney Shetland noir présentant un grisonnement des poils de la face lié à l'âge.

(Source : Photo personnelle)



Figure 4 : Effet du vieillissement sur le poil et ses populations mélanocytaires.

(Figure adaptée d'après Mort *et al.*, 2015)



Le grisonnement lié à l'âge est à distinguer du grisonnement prématuré, plus étendu et intense, comme la robe grise, que nous étudierons dans la partie sur les adjonctions de poils blancs dans la robe.

Enfin, les poils blancs laissés par certaines cicatrices s'expliquent par le fait que la blessure induit une migration des mélanocytes souches tellement intense qu'elle vide la niche (Mort *et al.*, 2015).

2. Synthèse des pigments mélaniques

La mélanine est produite par les mélanocytes dans des organites spécifiques : les mélanosomes ; en effet les nombreux produits intermédiaires de sa synthèse sont toxiques pour la cellule (Mort *et al.*, 2015). La maturation des mélanosomes comporte 4 stades. Les mélanosomes de stades I et II sont dits précoces car ils ne contiennent pas ou peu de pigments, tandis que les stades III et IV sont dits tardifs (Kondo et Hearing, 2011).

La mélanogénèse est sensible au pH bien que les mécanismes ne soient pas encore élucidés. Ainsi la régulation du pH des mélanosomes joue également un rôle clé dans la pigmentation des mammifères. Le pH des organites est principalement influencé par l'équilibre ionique interne. Cet équilibre est réalisé grâce à des pompes ioniques, des canaux ioniques spécifiques mais aussi par des transporteurs solutés. Les transporteurs solutés (*solute carrier* en anglais (SLC)) sont une vaste

famille qui jouent probablement un rôle pivot, parmi eux, SLC45A2 (ou protéine MATP, que nous retrouverons dans l'étude de la dilution crème) et SLC36A1 (que nous retrouverons dans l'étude de la dilution champagne). La protéine PMEL17 est une protéine amyloïdée nécessaire à la formation des fibrilles internes des mélanosomes. Les mélanosomes fibrillaires sont caractéristiques d'une production d'eumélanine, tandis que les mélanosomes produisant de la phéomélanine sont totalement dépourvus de fibrilles (Kondo et Hearing, 2011). Nous la retrouverons dans l'étude du phénotype Silver.

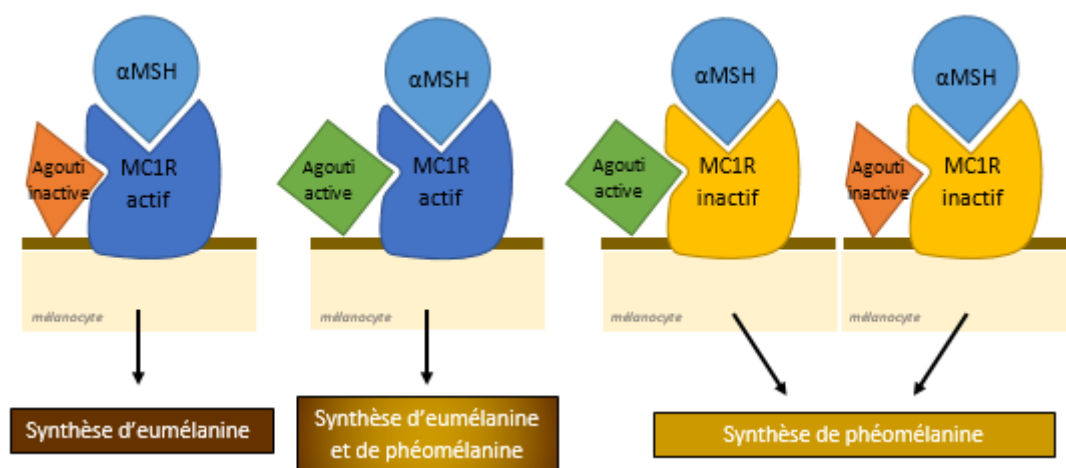
La mélanine est une macromolécule, on en distingue deux types ; l'eumélanine est noire ou marron foncée, tandis que la phéomélanine est rouge ou jaune.

La mélanine est produite à partir de la tyrosine, un acide aminé. L'enzyme tyrosinase (TYR) intervient dans la première étape de la synthèse et est indispensable : son absence conduit à l'albinisme (Mort *et al.*, 2015). L'activité de la tyrosinase est régulée par la liaison de la *melanocyte-stimulating hormone* (α MSH), sécrétée par la *pars intermedia* de l'hypophyse, à son récepteur le *melanocortin receptor* (MC1R), présent à la surface des mélanocytes. Le gène *MC1R* (locus *Extension*) détermine le type de mélanine produit, au gré de mutations (Robbins *et al.*, 1993). La stimulation hormonale de l' α MSH via MC1R induit la transcription de *MITF* qui stimule la transcription des trois enzymes de la mélanogénèse : la tyrosinase et deux protéines apparentées à la tyrosinase intervenant dans la synthèse de l'eumélanine, la *Tyrosine-related protein 1* (TYRP1) et la DOPAchrome tautomérase (DCT). Il est à noter que l' α MSH est la principale hormone inductrice de la mélanogénèse mais pas la seule ; la β MSH et l'ACTH possèdent également des propriétés inductrices de la mélanogénèse (Kondo et Hearing, 2011).

La protéine Agouti est un antagoniste du récepteur MC1R : sa présence bloque la stimulation de MC1R par l' α MSH et donc inhibe l'expression de *MITF*, ce qui réduit la production d'eumélanine et favorise celle de phéomélanine. Ainsi le gène *Agouti* détermine la répartition de l'eumélanine (Figure 5) (Lu *et al.*, 1994 ; Kondo et Hearing, 2011).

Figure 5 : Effets des interactions entre le récepteur MC1R et la protéine Agouti sur la synthèse de mélanine.

(Source : composition personnelle à partir des références précitées)



Les éléments de régulation de la mélanogénèse présentés ci-dessus constituent seulement les mécanismes principaux. Il existe un très grand nombre d'autres facteurs de régulation, dont les gènes *KIT* et *EDNRB*, qui agissent sur la transcription de *MITF*, principalement par des voies de signalisation kinase ou AMPc/PKA (Kondo et Hearing, 2011).

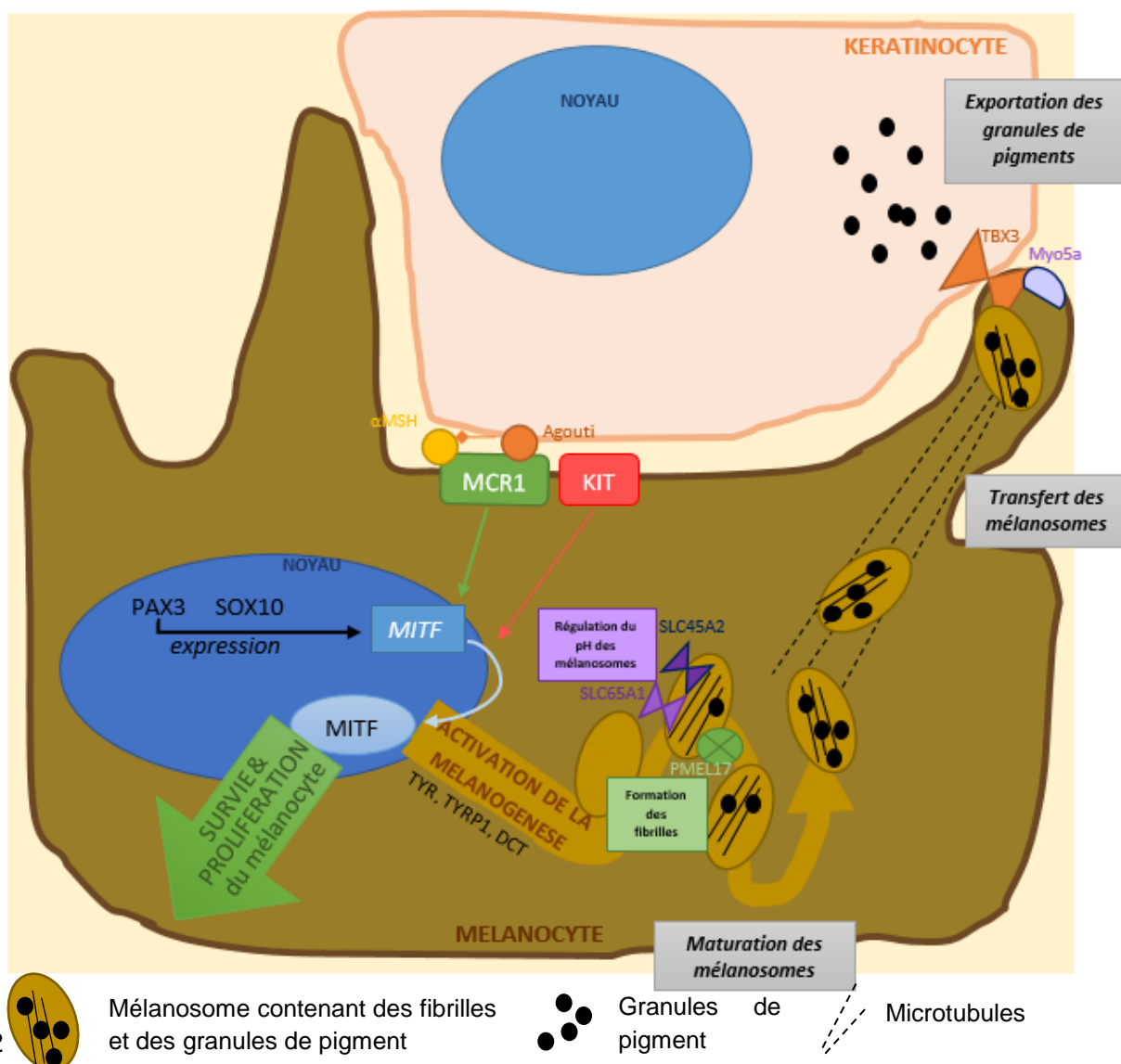
3. Transport et distribution des pigments

Les mélanosomes tardifs, remplis de mélanine, se lient aux microtubules via les protéines d'actine et sont transférés jusqu'en périphérie de la cellule puis aux kératinocytes (Kondo et Hearing, 2011 ; Mort *et al.*, 2015). Le transport de vésicules vers les organites cibles est contrôlé par les kinésines, les dynéines et la protéine Myo5a qui intervient dans la capture des mélanosomes au niveau des dendrites (Kondo et Hearing, 2011).

Les facteurs impliqués dans le processus de transfert des mélanosomes aux kératinocytes voisins et leur distribution restent méconnus. Il existe plusieurs hypothèses de transfert : (i) par cytophagocytose des extrémités des dendrites des mélanocytes, (ii) par exocytose des mélanosomes dans le milieu extracellulaire puis par phagocytose de ceux-ci par les kératinocytes, (iii) par transfert des mélanosomes par filopodes (Kondo et Hearing, 2011).

Le schéma ci-dessous (Figure 6) résume cette première partie sur les rappels concernant la mélanogénèse. Les gènes et protéines représentés ne sont pas exhaustifs. Seules les protéines et gènes d'intérêt dans la variation de la pigmentation chez le cheval sont représentés ici. Ces rappels biologiques étant posés, nous allons explorer le déterminisme génétique de la couleur de robe chez le cheval.

Figure 6 : Protéines et gènes impliqués dans le processus de mélanogénèse.
(Source : composition personnelle d'après les références précitées)



Deuxième partie : déterminisme génétique des robes

1. Les locus impliqués dans les robes de base

Deux gènes sont fondamentaux dans l'expression des robes car ils contrôlent la synthèse de l'eumélanine et de la phéomélanine. Ils donnent ainsi les trois robes de base : le bai, le noir et l'alezan. Toutes les autres robes ne sont que des dilutions et/ou des pertes de pigmentation (résultant visuellement en adjonctions de poils blancs) sur ces robes de base (Sponenberg et Bellone, 2017).

A. Locus Extension (gène *MC1R*)

Le gène *melanocortin receptor 1* (*MC1R*) est communément appelé locus Extension. Il code pour le récepteur à l' α -MSH (*α -melanocortin stimulating hormone*), et permet la synthèse d'eumélanine et de phéomélanine. L'allèle sauvage est dominant et est noté *E*.

La mutation C901T sur le gène *MC1R* est une mutation faux sens du codon 83 qui substitue une sérine par une phénylalanine dans la deuxième région transmembranaire du récepteur MCR1. La substitution altère la conformation alpha hélicoïdale du récepteur entraînant une perte de la fonction de synthèse d'eumélanine par les mélanocytes : ils ne synthétisent plus que de la phéomélanine. Cet allèle est récessif et est noté *e* ; à l'état homozygote il est ainsi à l'origine de la robe alezan qui se définit par un cheval avec les poils et les crins fauves (Wagner et Reissmann, 2000 ; Rieder *et al.*, 2001) (Photo 3).

Photo 3 : Etalon Pur-Sang Arabe alezan (génotype *ee*) : aucun poil noir dans la robe.

(Source : photo personnelle.)



Une autre mutation (G903A) faux-sens au codon 84 a été mise en évidence sur le gène *MC1R* : elle induit la substitution d'une aspartate par une asparagine et qui rend à nouveau la production d'eumélanine impossible. Cet allèle est noté *e^a*. Il est également récessif et responsable d'une robe alezane à l'état homozygote ou hétérozygote avec l'allèle *e* (Wagner et Reissmann, 2000). La connaissance de cet allèle est uniquement importante lors de l'utilisation de tests

génétiqes sur le locus extension : il est à l'origine de faux négatifs si le test n'est pas conçu pour le détecter (Wagner et Reissmann, 2000). Il a été identifié dans plusieurs races, notamment le Pottock (Rendo *et al.*, 2009).

Les allèles *e* et *e^a* n'induisent pas de variation de teinte significative de l'alezan (Wagner et Reissmann, 2000). En revanche, la distribution des allèles *e* et *E* semble être à l'origine d'une robe plus ou moins foncée. En effet une étude montre que les chevaux bais homozygotes pour *E* sont tous plus foncés que les autres. Mais l'auteur attire l'attention sur le fait que des biais sont possibles en raison de la constitution du groupe de chevaux et l'existence probable de variations génétiques non connues ce jour (Rieder *et al.*, 2001).

B. Locus Agouti (gène *Agouti* ou *ASIP*)

Le gène *Agouti* (également nommé *ASIP*) code pour la protéine Agouti qui est un antagoniste compétitif du récepteur MC1R et inhibe la production d'eumélanine stimulée par l' α -MSH (Lu *et al.*, 1994). Ce gène contrôle la distribution relative de l'eumélanine et de la phéomélanine sur le corps du cheval : il n'est pas exprimé dans les crins ni aux extrémités (membres, bout du nez). Il est donc responsable de la robe baie qui se définit par des poils fauves plus ou moins foncés sur le corps (phéomélanine) avec des crins noirs et des extrémités noires (phéomélanine et eumélanine) (Photo 4). L'allèle sauvage, noté *A*, est dominant. La protéine agouti agissant sur la production d'eumélanine, ses effets ne sont visibles que sur un cheval capable d'en produire (de génotype *EE* ou *Ee* au locus *extension*), elle est sans effet sur un cheval alezan (*e/e*).

Photo 4 : Poney français de selle de robe baie, la robe est fauve avec les extrémités et les crins noirs. Source : photo personnelle.



Il existe 4 mutations sur le gène *Agouti*, dont une délétion (ADEX2) à l'origine d'un codon stop beaucoup plus tardif (plusieurs centaines de paires de bases en aval). La protéine agouti en résultant est alors plus longue et non fonctionnelle. Cet allèle est noté *a* et est récessif. Par conséquent sa présence à l'état homozygote est associée à une robe noire si le cheval est porteur d'au moins un allèle *E* (Photo 5) (Robbins *et al.*, 1993 ; Rieder *et al.*, 2001). Cet allèle n'est pas responsable de variations de teinte plus ou moins foncée des robes (Rieder *et al.*, 2001).

Photo 5 : Deux juments Frisons noires, leurs robes et leurs crins sont entièrement noirs.

(Source : photo personnelle)

Pour rappel, la robe de base est à envisager sans tenir compte des panachures, marques en tête et balzanes.



Il existe un autre allèle *Agouti* responsable d'une robe baie mais beaucoup moins fréquent que l'allèle bai classique *a*. Il est nommé « *wild bay* » et l'on présume qu'il s'agit de l'allèle original ou ancestral et qu'il est dominant sur l'allèle bai classique. Par conséquent il est noté *A*⁺. La différence entre bai et *wild bay* est l'étendue des extrémités noires : celles d'un bai classique remontent jusqu'au carpe et au tarse, tandis que celles d'un *wild bay* se limitent au boulet voire seulement au paturon (Photos 6) (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photos 6 : Selle Français bai porteur de l'allèle « *wild bay* », les extrémités noires ne dépassent pas le boulet. Source : photos personnelles.



C. Un locus Brown ?

Pendant de nombreuses années, il était admis qu'il existait un troisième locus, *TYRP1*, à l'origine d'une robe de base « *brown* » ou « *liver chestnut* » (chocolat ou alezan brûlé en français) (Photo 7). Chez la Souris et le Chien, la protéine TYRP1 change le pigment d'eumélanine noir en eumélanine brune. Cependant, aucune étude à ce jour n'a pu mettre en évidence d'association entre les mutations pourtant identifiées sur ce locus et une robe brune chez le cheval (Rieder *et al.*, 2001 ; Sponenberg et Bellone, 2017).

Photo 7 : Jument alezan brûlé (« *liver chestnut* ») et son poulain.

(Source : photo personnelle)



Les différentes combinaisons alléliques possibles des deux gènes fondamentaux et les robes de bases associées sont résumées dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Corrélations entre génotypes, phénotypes et mécanismes moléculaires expliquant des robes de base aux locus *Extension* et *Agouti*.

(Source : composition personnelle)

PHENOTYPES	BAI (<i>BAY</i>)	NOIR (<i>BLACK</i>)	ALEZAN (<i>CHESTNUT</i>)
GENOTYPES	$E_- ; A^+_-$ ou $E_- ; A_-$	$E_- ; aa$	$ee - _ _$ $e^a e - _ _$ $e^a e^a - _ _$
MECANISMES MOLECULAIRES	Récepteur <i>MCR1</i> et protéine <i>Agouti</i> fonctionnels	Protéine <i>Agouti</i> non fonctionnelle	Récepteur <i>MCR1</i> non fonctionnel, mélanocyte incapable de produire de l'eumélanine

2. Les locus impliqués dans les dilutions

A. Locus Crème (gène *SLC45A2*)

Le locus crème est à l'origine d'une dilution de robe, dont le résultat varie selon la robe de base et la zygosity des allèles mutés. Ce locus correspond au gène *SLC45A2*, aussi appelé *MATP*, qui code pour une protéine de transport impliquée dans la régulation du pH des mélanosomes et donc qui oriente indirectement la mélanogenèse (voir partie I.2) (Kondo et Hearing, 2011 ; Sponenberg et Bellone, 2017). Il a déjà été identifié comme étant à l'origine d'une hypopigmentation cutanée et/ou oculaire chez l'Homme et la Souris (Kondo et Hearing, 2011). Trois allèles ont été découverts sur ce gène : l'allèle sauvage noté C^+ , l'allèle « *cremello* » noté C^{cr} et l'allèle « *pearl* » noté C^{prl} . C^+ et C^{cr} sont codominants, C^{prl} est récessif par rapport à C^+ mais codominant par rapport à C^{cr} .

L'allèle *cremello* C^{cr} est une mutation faux-sens située sur l'exon 2 du gène *SL45A2* due à la substitution d'une base qui conduit au remplacement d'une aspartate par une arginine (Mariat *et al.*, 2003). Cela induirait à un changement de conformation de la protéine, la rendant non fonctionnelle. Les allèles C^+ et C^{cr} sont codominants : ainsi, un cheval hétérozygote pour C^{cr} présente une dilution moins marquée qu'un cheval homozygote pour C^{cr} car il possède encore des protéines de transport fonctionnelles (Mariat *et al.*, 2003). L'eumélanine est aussi moins affectée que la phéomélanine par la dilution.

L'alezan est dilué en palomino lors d'hétérozygotie pour C^{cr} et en *cremello* lors d'homozygotie. Le bai est dilué en isabelle et en *perlino*, et le noir en *smoky black* et en *smoky cream*. On notera que la nomenclature française retenue par l'IFCE pour l'identification des équidés n'a pas de terme propre pour les robes *cremello*, *perlino*, *smoky black* et *smoky cream* ; *smoky black* est souvent désignée par le terme « chocolat », tandis que *cremello*, *perlino* et *smoky cream* sont englobées par le terme « crème », ce qui est imprécis génétiquement et qui peut être à l'origine d'incohérences dans les pedigrees des chevaux « crème ». Le terme crème dans la nomenclature française désigne des poils et des crins très clairs associés à des yeux bleus.

Un cheval palomino présente des poils fauve clair à dorés avec des crins blancs argent, toujours plus clairs que les poils (Photo 8). La peau reste noire ou grise et les yeux foncés. C'est une robe qui fonce avec l'âge.

**Photo 8 : Paso Péruvien de robe palomino (génotype ee ; $__$; $C^{cr}C^+$). Les crins sont plus clairs que les poils.
(Source : photo personnelle.)**



Un cheval de robe isabelle a des poils jaunâtres avec les crins et les extrémités noirs (Photo 9).

**Photo 9 : Quarter Horse de robe isabelle (*buckskin* en anglais) (génotype E_- ; A_- ; $C^{cr}C^+$).
(Source : photo personnelle.)**



La robe *smoky black*, souvent désignée comme chocolat en français, est très faiblement diluée (Photo 10 et Photos 11).

Photo 10 : Jument Morgan de robe *smoky black* (génotype E_- ; aa ; $C^{cr}C^+$).

(Source : <http://www.morgancolors.com/smokyblack.htm>.)



Photos 11 : Jument Morgan de robe *smoky black* à 2 ans (à gauche) et 3 ans (à droite).

(Source : <http://www.morgancolors.com/smokyblack.htm>.)



Un cheval de robe *cremello* présente des poils crème et des crins plus blancs. Sa peau est rose et ses yeux sont bleus (Photo 12).

Photo 12 : Etalon Demi-Sang Arabe de robe *cremello*, (génotype ee ; $__$; $C^{cr}C^{cr}$). Les poils et les crins sont très clairs, la peau est rose et les yeux sont bleus.

(Source : Photo de Lois Bertrand)



Un cheval de robe *perlino* présente des poils crème et des crins grisâtres plus foncés que les poils. Sa peau est rose et ses yeux sont bleus également (Photos 13).

Photos 13 : Etalon Pure Race Espagnole de robe *perlino* (génotype Ee ; AA ; C^{cr}C^{cr}).

(Source : Elevage Yeguada Paco Marti (<https://www.facebook.com/YeguadaPacoMarti/>))



La robe *smoky cream*, (Photos 14) souvent désignée par crème en français, est simplement plus pigmentée que la robe *perlino*.

Photos 14 : Etalon Poney Welsh Section B de robe *smoky cream* (génotype EE ; aa ; C^{cr}C^{cr}).

(Source : <https://www.horse-genetics.com/smoky-cream.html>)



Comme mentionné plus haut, l'eumélanine est moins affectée que la phéomélanine par la dilution ; par conséquent, les crins noirs d'un cheval de base baie restent plus foncés ce qui aide notamment à distinguer le *cremello* du *perlino*. Les robes *smoky* sont globalement plus colorées que les robes *perlino* et *cremello*. La détermination des robes diluées reste malgré tout difficile, notamment car d'autres gènes de dilutions peuvent interagir. Un test génétique est désormais disponible et est très utile pour l'identification et la reproduction des chevaux portant des robes

crème. L'effet de dilution de l'allèle *cremello* C^{cr} sur les robes de base est rapporté dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Effets de la distribution des allèles au locus *Crème* sur les robes de base.

Dénomination de la nomenclature admise par l'IFCE, en italique les termes de la nomenclature anglosaxonne. (Source : d'après les données de Sponenberg et Bellone, 2017 ; Mariat *et al.*, 2003)

C^+/C^+	C^+/C^{CR}	C^{CR}/C^{CR}
ALEZAN (CHESTNUT)	Palomino (<i>palomino</i>)	Crème (<i>cremello</i>)
BAI (BAY)	Isabelle (<i>buckskin</i>)	Crème (<i>perlino</i>)
NOIR (BLACK)	Chocolat (<i>smoky cream</i>)	Crème (<i>smoky cream</i>)

Le troisième allèle, nommé *pearl* et noté C^{prl} , est récessif en l'absence de l'autre allèle de dilution C^{cr} . Un cheval hétérozygote C^{prl}/C^+ ne présentera pas une robe diluée (Photos 15 a et b), néanmoins quelques ponctuations pâles ou une couleur légèrement plus claire peuvent être présentes. L'allèle C^{prl} bien que responsable d'une protéine non fonctionnelle comme l'allèle C^{cr} , est à l'origine de phénotypes différents de ceux induits par C^{cr} . En cas d'homozygotie pour C^{prl} , un cheval alezan est dilué en *gold pearl*, un bai en *amber pearl* (Photos 16 a et b), un noir en *classic pearl* (Photo 17). Les différences entre ces robes sont faibles, ainsi elles sont souvent plus globalement désignées simplement par le terme *pearl* (Sponenberg et Bellone, 2017). En français, on peut les désigner par les termes « crème » ou « café au lait » (poils et crins couleur café au lait, yeux foncés) selon les chevaux.

Il est probable que cet allèle soit apparu à l'époque médiévale : les chevaux les plus anciens sur lesquels il a été identifié était 3 chevaux médiévaux (Wutke *et al.*, 2016).

Photos 15 : Deux chevaux Pure Race Espagnole hétérozygotes pour C^{prl} présentant une robe baie illustrant la récessivité de l'allèle C^{prl} .

(Source : Elevage Yeguada Paco Marti (<https://www.facebook.com/YeguadaPacoMarti/>))



Photos 16 : Etalon Pure Race Espagnole de robe *Amber Pearl* (homozygote pour « *pearl* » sur base baie : *EE* ; *Aa* ; *C^{prl}C^{prl}*).

(Source : Elevage Yeguada Paco Marti (www.pacomarti.com & <https://www.facebook.com/YeguadaPacoMarti/>))



Photo 17 : Etalon Pure Race Espagnole de robe *classic pearl* (homozygote pour « *pearl* » sur base noire : *EE* ; *aa* ; *C^{prl}C^{prl}*).

(Source : Elevage Yeguada Paco Marti (<https://www.facebook.com/YeguadaPacoMarti/>))



L'association des allèles *C^{prl}* et *C^{cr}* donne des robes très diluées, très proches de celles obtenues avec des chevaux homozygotes pour *C^{prl}* (Tableau 4) (Sponenberg et Bellone, 2017).

Tableau 4 : Effets de la distribution des allèles *Pearl* (C^{prl}) et *Cremello* (C^{cr}) sur les robes de base.

Dénomination de la nomenclature admise par l'IFCE, en italique les termes de la nomenclature anglosaxonne (Source : d'après les données de Sponenberg et Bellone, 2017).

C^+/C^+	C^{PRL}/C^+	C^{PRL}/C^{PRL}	C^{CR}/C^{PRL}
ALEZAN (CHESTNUT)	Alezan (<i>chestnut</i>)	Crème ou Café au lait (<i>Gold pearl</i>)	Crème ou Café au lait (<i>Light gold pearl</i>)
BAI (BAY)	Bai (<i>bay</i>)	Crème ou Café au lait (<i>Amber pearl</i>)	Crème ou Café au lait (<i>Light amber pearl</i>)
NOIR (BLACK)	Noir (<i>black</i>)	Crème ou Café au lait (<i>Classic pearl</i>)	Crème ou Café au lait (<i>Light classic pearl</i>)

La majorité des chevaux dits « crème », notamment ibériques, sont hétérozygotes C^{cr}/C^{prl} . L'allèle *pearl* C^{prl} a aussi été trouvé chez les Gypsy Cobs, les Quarter Horses et les Paint Horses, et est détecté chez de plus en plus de races. Il est ainsi à l'origine de surprises en élevage. Un test génétique est disponible (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photos 18 : Chevaux Pure Race Espagnole C^{cr}/C^{prl} . Leurs phénotypes sont proches de ceux de chevaux homozygotes pour C^{prl} .

(Source : Elevage Yeguada Paco Marti (<https://www.facebook.com/YeguadaPacoMarti/>))



Il n'existe pas de maladies rapportées à cette dilution.

B. Locus Champagne (gène *SLC36A1*)

La robe champagne varie de la teinte chocolat à des teintes jaunes dorées très pâles selon la robe de base, et est fréquemment luisante (Photo 19). L'allèle muté est noté *CH* et est dominant sur l'allèle sauvage *ch⁺* (Cook *et al.*, 2008). Ainsi les chevaux alezans possédant un ou deux allèles *CH* sont champagne doré (*champagne gold*), les bais sont champagne classique (*classic champagne*) et les noirs sont champagne ambré (*amber champagne*). L'élément caractéristique de la robe est la pigmentation de la peau, qui est rosée ou marron claire, et surtout tachetée (Photo 20). Les yeux sont souvent de couleur ambre (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photo 19 : Effet de la dilution champagne sur les robes de base.

Source : (Cook *et al.*, 2008).



Photo 20 : La peau des chevaux Champagne est claire et tachetée.

(Source : Cook *et al.*, 2008)



Une unique mutation faux sens sur l'exon 2 du gène *SLC36A1* résulte en le remplacement d'une thréonine par une arginine au niveau d'un domaine transmembranaire de la protéine, hautement conservé chez les mammifères. Cette mutation est statistiquement associée à la dilution champagne, qui affecte à la fois l'eumélanine et la phéomélanine. Cependant, l'étude n'a pas permis encore d'écarter la possibilité que cette mutation soit simplement associée à la dilution sans pour autant en être à l'origine (Cook *et al.*, 2008).

Tout comme la protéine *SLC45A2* (locus *Crème*), *SLC36A1* est un membre de la famille des SLC qui sont des protéines de transport impliquées dans la régulation du pH des mélanosomes. Une mutation peut la rendre non fonctionnelle et ainsi altérer le pH du mélanosome ce qui perturbe la mélanogenèse (Cook *et al.*, 2008).

Un test génétique est disponible pour ce gène. Il est très utile en élevage car il peut être très difficile de reconnaître phénotypiquement le gène impliqué. Aucune maladie associée à cette mutation n'est rapportée ce jour.

C. Locus Z (Silver) (gène *PMEL17*)

Le gène *Silver* entraîne une dilution de l'eumélanine mais pas de la phéomélanine, et son effet est visible sur les poils longs : la queue et la crinière et les cils (voire les fanons s'ils sont longs). Ainsi, un cheval *silver* présente des crins dilués à très dilués (jusqu'à un argenté presque blanc) mais une robe très faiblement diluée sur le corps (Photo 21). Le gène *Silver* n'a pas d'effet visible sur le cheval alezan puisque celui-ci ne synthétise que de la phéomélanine (Brunberg *et al.*, 2006). Avec l'âge, la crinière des chevaux *silver* a tendance à devenir plus foncée (Photo 22), et il est possible de ne plus remarquer la dilution ; cependant, les cils restent généralement plus clairs (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photo 21 : Deux Comtois silver sur base noire (*black silver*) (génotype $E_- ; aa ; Z_-$)

(Source : photos personnelles)



Photo 22 : Un cheval *silver* sur base baie (*silver bay*) dont les crins ont foncé avec l'âge (génotype $E_- ; A_- ; Z_-$).

(Source : photo personnelle)



La robe *silver* est difficile à identifier chez le poulain, mais un signe fréquent, dont l'association n'est pas formellement démontrée, est la présence de sabots à stries qui disparaissent généralement au bout d'un an (Brunberg *et al.*, 2006).

La robe *silver* est très répandue chez le Cheval Miniature Américain et le Rocky Mountain Horse mais aussi présente chez d'autres races notamment le Morgan, l'American Paint Horse, l'Islandais, le Shetland, le Comtois, et même très rarement chez le Poney Welsh et le Pur-sang Arabe (Brunberg *et al.*, 2006a ; Komáromy *et al.*, 2011 ; Ségard *et al.*, 2013 ; Johansson *et al.*, 2017).

Les chevaux Islandais du 9^{ème} siècle portaient déjà la mutation silver (Wutke *et al.*, 2016).

Deux polymorphismes sur le gène *premelanosome protein 17* (*PMEL17*) sont associés à la robe *silver* : le premier est une mutation faux-sens qui substitue une arginine à une cystéine sur l'exon 11 dans une région cytoplasmique de la protéine ; le second est une mutation silencieuse sur

l'intron 9 (Brunberg *et al.*, 2006b ; Reissmann *et al.*, 2007). Ils ne sont séparés que de 759 bases. A ce jour, le polymorphisme causal n'est pas déterminé car ils sont tous deux complètement associés au phénotype *silver*. Une jument alezane a cependant donné naissance à des poulains *silver* malgré des pères non *silver*, ce qui vient illustrer l'absence d'effet de l'allèle muté sur la phéomélanine. L'allèle muté (qui comporte les deux polymorphismes) est noté *Z* et est dominant, tandis que l'allèle sauvage est noté *z*⁺ (Brunberg *et al.*, 2006b ; Reissmann *et al.*, 2007)

Le gène *PMEL17* code pour une protéine transmembranaire présente dans les mélanosomes. Elle est impliquée dans la production de l'eumélanine mais son fonctionnement précis est encore mal connu. Dans les mélanosomes de stades précoces, la protéine PMEL17 organise la substance amyloïde en fibrilles puis en feuillettes, sur lesquels les pigments d'eumélanine sont ensuite déposés. Les mélanosomes ne produisant que des phéomélanines en sont dépourvus (Watt *et al.*, 2011 ; Kondo et Hearing, 2011).

La mutation faux sens touche le domaine transmembranaire de la protéine PMEL17 ce qui entraîne un changement de conformation de celui-ci ; cela altère les capacités d'oligomérisation du domaine transmembranaire mais en facilite la dimérisation. Cela n'affecte pas le trafic de la PMEL17 vers les compartiments pré-mélanosomaux, ni sa capacité à former des fibrilles dans les compartiments endosomaux ; en revanche, la morphologie des feuillettes formées par la suite dans les mélanosomes précoces est altérée : ils sont très serrés entre eux et remplissent tout le mélanosome ce qui empêche soit le dépôt des grains de mélanine, soit une inhibition de la synthèse des pigments (Watt *et al.*, 2011).

La dilution *silver* est associée au syndrome des anomalies congénitales oculaires multiples, détaillées dans la troisième partie.

D. Locus Dun (gène *TBX3*)

La robe « *dun* » est une dilution qui affecte presque tout le corps sauf les marques primitives, de formes variables (Photo 23 et Photo 24). La plus commune des marques primitives est la raie de mulet et c'est la seule dont la présence est systématique chez les chevaux *dun* (Imslund *et al.*, 2016). Les autres marques primitives sont les zébrures horizontales sur les membres (Photo 24), la bande scapulaire, la bande cruciale (qui correspond à l'association d'une raie de mulet et d'une bande scapulaire) et la tête cap de maure (seule la tête est plus foncée que le reste du corps) (Sponenberg et Bellone, 2017). La nomenclature anglosaxonne a défini des termes propres selon la robe de base : *red dun*, *grullo* ou *blue dun*, *apricot dun*, *golden dun*, *zebra dun*, *claybank dun*, *lobo dun* ... (Sponenberg et Bellone, 2017) tandis que la nomenclature française résume le tout en « souris ». Il y a souvent confusion entre certaines teintes de *dun* et l'isabelle (*buckskin*), notamment chez certaines races car la définition de « *dun* » varie d'une race à l'autre et d'un pays à l'autre.

Photo 23 : La raie de mulet et la tête cap de maure sont deux marques primitives courantes chez le cheval *dun*.

A gauche, deux chevaux Quarter-Horse de robe *dun*, dont la raie de mulet est ici évidente ainsi que la tête cap de maure, à droite une ponette Shetland *dun* (source : photo personnelle (à gauche) et de Chloé Aubourg (à droite)).



Photo 24 : Un Quarter Horse de robe *dun* présentant quelques zébrures sur les membres antérieurs et des crins plus clairs au centre de la crinière et de la queue.
(Source : photo personnelle)



Le locus du gène est situé sur le chromosome 8 et correspond au gène *T-box transcription factor 3* (*TBX3*). Deux polymorphismes à nucléotide simple (*single nucleotide polymorphisms* en anglais, SNP), qui sont deux substitutions faux-sens, et une délétion de 1,6 kb (kilobases) à l'origine d'un codon stop précoce ont été découverts. Ils définissent ainsi 3 allèles : l'allèle *non-dun 1* (*nd1*) qui comporte les deux SNP, l'allèle *non-dun 2* (*nd2*) qui comporte le premier SNP et la délétion, et l'allèle sauvage et dominant *dun* (*D**). La robe *non-dun* est récessive : elle est ainsi permise par une homozygotie pour l'allèle *non-dun 1* ou *non-dun 2*, ou par une hétérozygotie *non-dun 1/non-dun 2* (Tableau 5) (Imslund *et al.*, 2016).

L'allèle *non-dun 1* conserve la présence de marques primitives sur une robe non diluée, mais pas l'allèle *non-dun 2*. L'allèle *non-dun 2* a donc un effet plus marqué que l'allèle *non-dun 1* (Imsland *et al.*, 2016).

Tableau 5 : Effets de la distribution des allèles Dun sur le phénotype.

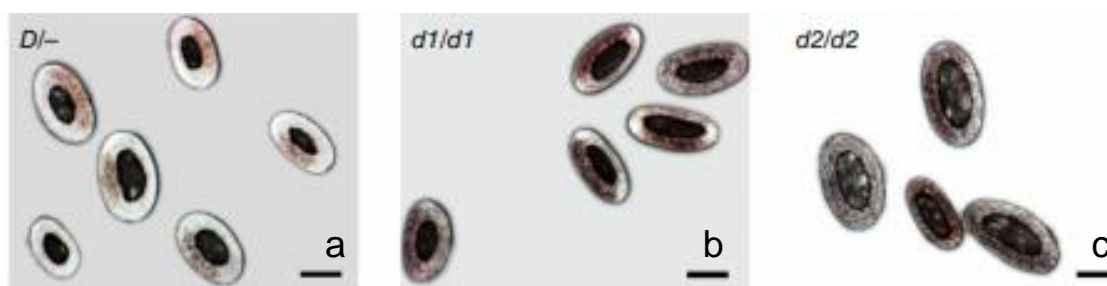
(D'après les données de Imsland *et al.*, 2016)

PHENOTYPE	GENOTYPE
DUN (AVEC MARQUES PRIMITIVES OBLIGATOIRES)	<i>D+₋</i>
NON-DUN AVEC MARQUES PRIMITIVES	<i>nd1/nd1</i> ou <i>nd1/nd2</i>
NON-DUN SANS MARQUES PRIMITIVES	<i>nd2/nd2</i>

Le gène *TBX3* est exprimé de manière asymétrique dans la couche cuticulaire externe du follicule pileux des chevaux *dun* hors ligne dorsale ce qui entraîne la « raie de mulet » et agit dans un sous-ensemble spécifique de kératinocytes du cortex pileux : le bulbe, dont il réduit le volume. L'expression asymétrique de du gène *TBX3* stimule ainsi de manière asymétrique les gènes de régulation de la mélanogénèse, dont le gène *KITLG*. Or le gène *KITLG* codant pour une molécule indispensable à la migration et à la survie des mélanocytes, son expression asymétrique entraîne la répartition asymétrique des mélanocytes dans le follicule et des pigments dans les poils des chevaux *dun* (Photos 25 et Photos 26). Cette répartition asymétrique laisse passer la lumière dans le poil ce qui donne l'aspect dilué. Le gène *TBX3* régule donc la déposition des pigments selon l'axe radial du follicule pileux (Imsland *et al.*, 2016).

Photos 25 a, b et c : Coupes transversales de poils (hors raie de mulet si présente) de chevaux *dun* (a), non *dun* avec raie de mulet (b) et non *dun* (c).

Sur les poils de cheval *dun* la répartition asymétrique des pigments est bien visible (a), tandis qu'elle est plus discrète pour le cheval non-*dun* comportant une raie de mulet (b). Pour un cheval non *dun* sans raie de mulet, la répartition pigmentaire est bien homogène dans toute la corticale du poil (c) (Source : Imsland *et al.*, 2016).

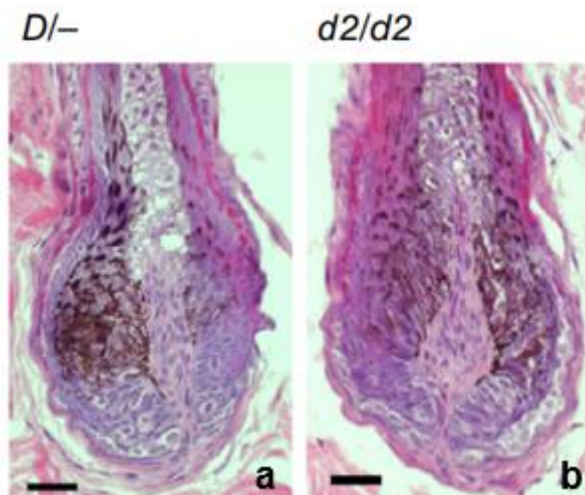


Les allèles non-*dun* ne permettent pas l'expression asymétrique du gène *TBX3*, donc l'expression du gène *KITLG* est symétrique. Les mélanocytes peuvent alors migrer et survivre : le poil est entièrement pigmenté.

Le gène *dun* est ainsi un gène de dilution très particulier, car c'est le seul pour lequel la dilution ne résulte pas d'une perte de fonction.

Photos 26 a et b : Coupes longitudinales de follicules pileux colorées à l'hématoxyline et l'éosine d'un cheval dun (a) et d'un cheval non dun (b). La mélanine est répartie de manière homogène chez le cheval non dun tandis qu'elle n'est présente que de manière asymétrique chez le cheval dun.

(Source : Imsland et al., 2016)



La robe *dun* est considérée comme une robe primitive, portée par les ancêtres du cheval moderne et par son cousin le cheval de Przewalski (Pruvost et al., 2011). Le séquençage de l'ADN de fossiles d'équidés ont permis de dater grossièrement l'apparition des allèles *non-dun*. Ainsi l'allèle *non-dun 1* existe depuis plus de 43 000 ans, tandis que l'allèle *non-dun 2* existe probablement seulement depuis quelques millénaires et dérive de l'allèle *non-dun 1* (Imsland et al., 2016).

Aucune maladie associée à ce locus n'a été découverte.

E. Locus Mushroom

La robe *mushroom* a été découverte récemment. Cette robe est très peu répandue, elle est décrite chez le Shetland et le Haflinger, et son existence est encore à confirmer chez le Quarter-Horse. Le cheval présente une robe taupe, beige pâle ou sépia, avec des crins plus ou moins dilués (Photos 27 a et b). Les chevaux *mushroom* ne portent pas la mutation silver (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photos 27 a et b : Deux poneys Shetland porteurs de la robe Mushroom.

(Source : <http://minishetland-ak.fr/shetland-mushroom/>.)



Le gène en cause n'a pas encore été découvert, mais il s'agit d'un allèle récessif, temporairement noté *mu*, (*Mu*⁺ pour l'allèle sauvage, dominant). Malgré un effet phénotypique similaire au gène silver, le gène *mushroom* affecte au contraire les alezans, mais les études actuelles n'ont pas encore permis de savoir si les chevaux de base baie ou noire sont affectés (Sponenberg et Bellone, 2017).

En conclusion, les dilutions de robes sont nombreuses et leurs effets peuvent se combiner et donner des phénotypes très proches les uns des autres. Il est ainsi difficile de se prononcer sur le génotype d'un cheval ayant une robe diluée (Photo 28), même en connaissant l'ascendance du cheval. C'est pourquoi les tests génétiques proposés par les différents laboratoires sont des outils utiles, d'autant plus en cas de reproduction pour sélectionner les animaux.

Photo 28 : L'étalon Rocky Mountain Horse « Gone N Dun It » est *silver smoky grullo* ; sa robe de base est noire et il porte un allèle cremello, un allèle silver et un allèle dun (*EE* ; *aa* ; *C^{cr}C⁺* ; *Zz* ; *Dn ndn*).

(Source : <http://www.doublecreekfarm.com/gunnar.htm>)



3. Les locus impliqués dans l'ajout de poils blancs et la panachure

La panachure est une adjonction de poils blancs sur les robes de bases et dilutions traitées ci-dessus : en effet un poil blanc illustre une dépigmentation. Ainsi pour déterminer la robe d'un cheval, on commence toujours par regarder uniquement les zones colorées pour se représenter mentalement le cheval sans ses poils blancs, afin de définir la robe de base et l'éventuelle dilution, puis seulement on s'intéresse à la répartition des poils blancs (Sponenberg et Bellone, 2017).

A. Locus Gris (gène *STX17*)

La robe grise est une robe très ancienne, mentionnée dans de nombreux écrits datant d'il y a plus de 2000 ans. Le séquençage d'ADN de nombreux chevaux gris de races différentes du monde entier ont permis de montrer que ceux-ci portent tous la même mutation ce qui suggère que cette mutation est très ancienne. De plus, une partie d'entre eux portent des polymorphismes absents chez les chevaux non gris, ce qui atteste encore de l'ancienneté de l'apparition de l'allèle gris (Sundström *et al.*, 2012).

La robe grise est définie dans l'ancienne nomenclature française comme un mélange de poils blancs et de poils noirs (Photo 29). Cependant la robe grise est en réalité une robe évolutive, résultat d'un grisonnement plus ou moins rapide à partir d'une robe de base. D'année en année des poils blancs apparaissent partout sur le corps et dans les crins, le cheval prend une robe d'aspect rouané, (voir partie II.3.B) à l'exception que les poils blancs apparaissent également sur la tête et les membres. Il s'agit alors plutôt d'un mélange avec de plus en plus de poils blancs et de poils colorés. Au stade ultime, la plupart des chevaux paraissent alors blancs ou presque blancs mais leur peau reste noire, à la différence du véritable cheval blanc (Photo 30) (voir *Deuxième partie.3.C*).

Photo 29 : Cheval Demi-Sang Arabe gris.
(Source : photo personnelle.)



Photo 30 : Cheval de selle gris, sa peau noire permet de le différencier d'un véritable cheval blanc.

(Source : photo de Chloé Aubourg)



Lors de l'identification d'un poulain, seule sa robe de base est visible et sera retenue. Il conviendra de corriger celle-ci par la suite s'il devient gris. Il faut également faire attention sur un

cheval plus âgé qui présente un mélange de poils blancs : il faut différencier le gris du pattern rouan (Photo 31). Dans la nomenclature de l'IFCE, il existe une catégorie « gris », mais il est possible également d'ajouter le terme « mélangé » à chaque type de robe, or un cheval qui grisonne passe par une phase « mélangée » ce qui peut être source d'erreur puisque le pattern rouan sera également noté « mélangé ».

Photo 31 : Hongre Selle Français de 3 ans gris sur robe de base alezane.

La robe de base est encore visible, il a une teinte rosée. Il ne faut pas confondre avec un alezan granité (pattern rouan sur robe de base alezane, non évolutif) (Source : photo personnelle).

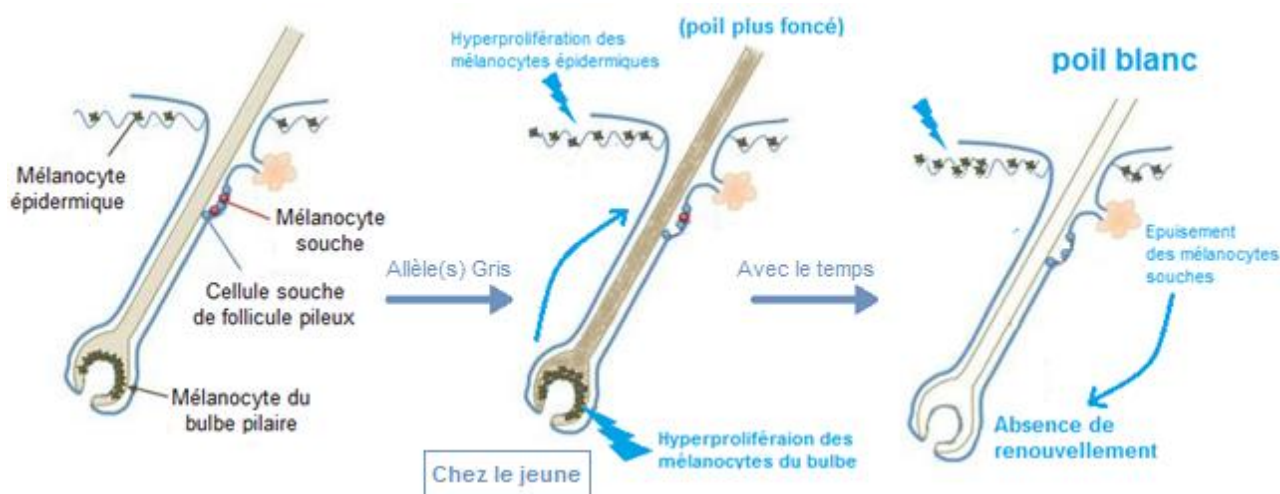


L'allèle gris est dû à une duplication de 4,6 kb dans l'intron 6 du gène *Syntaxin 17* (*STX17*) sur le chromosome 25 (Pielberg *et al.*, 2008 ; Sundström *et al.*, 2012). Il est dominant et est noté G, ce qui implique qu'un cheval gris a donc obligatoirement au moins un de ses parents qui est gris. Il est également épistatique sur toutes les autres couleurs sauf le blanc et les panachures. La perte de pigmentation n'affecte que les poils et les crins, la peau reste foncée, ce qui indique que les mécanismes moléculaires de formation des pigments des mélanocytes sont différents selon qu'ils appartiennent aux follicules pileux ou à la peau (Sundström *et al.*, 2012).

Le gène *STX17* code pour un membre de la famille des syntaxines qui sont des protéines impliquées dans les vésicules de transport. Une duplication de ce gène pourrait donc affecter le transport ou la production des mélanosomes et donc altérer la pigmentation. Mais cette hypothèse est peu probable dans la mesure où les chevaux gris naissent colorés et que leur peau reste noire tout au long de leur vie. Le gène *nuclear receptor subfamily 4, group A, member 3* (*NR4A3*), voisin de la région dupliquée, ne présente pas de mutation, mais il est surexprimé dans les mélanomes des chevaux gris. Il est impliqué dans la régulation du cycle cellulaire. L'hypothèse retenue est que le grisonnement résulte de la surexpression de *STX17* et/ou *NR4A3*. La duplication stimule une prolifération excessive des mélanocytes pilaires conduisant à un épuisement des mélanocytes souches. Dans un premier temps, avant la déplétion complète des mélanocytes souches, l'hyperprolifération des mélanocytes pilaires explique l'apparition de poils plus foncés que la robe de base. Puis, les mélanocytes pilaires meurent par apoptose une fois la pigmentation pilaire achevée et ne sont plus renouvelés ; les poils deviennent ainsi blancs, petit à petit. En revanche la peau reste noire car les mélanocytes épidermiques prolifèrent tout en survivant (Figure 7) (Pielberg *et al.*, 2008).

Figure 7 : Hypothèse de mécanisme à l'origine de la robe grise chez le cheval.

(Source : Composition personnelle à partir de la figure de Mort *et al.*, 2015 (à gauche).)



Les chevaux gris homozygotes ont une vitesse de grisonnement plus rapide que les hétérozygotes, ils sont d'un « blanc » plus uniforme en stade ultime (Rosengren Pielberg *et al.*, 2008 ; Sundström *et al.*, 2012) et présentent beaucoup plus rarement des truitures. Les truitures (Photo 32) sont de très petites taches pigmentées. Elles pourraient représenter des événements somatiques pour lesquels il y a perte ou inactivation de la duplication et donc perte de l'expression de l'allèle gris très localement. Ainsi pour un cheval homozygote pour le gris il faut que les deux chromosomes porteurs de la mutation grise soient affectés par l'inactivation/perte de la duplication tandis que pour un cheval hétérozygote l'affectation d'un seul chromosome suffit (Rosengren Pielberg *et al.*, 2008).

Photo 32 : Poney Français de Selle gris truité. Les truitures sont de petites taches pigmentées qui pourraient être les manifestations d'évènements somatiques d'inactivation de l'allèle « gris ».

(Source : photo personnelle.)



Certaines races de chevaux présentent fréquemment un grisonnement tardif (à partir de 15 ans) (Photo 33) ou incomplet, comme le Connemara, bien qu'ils possèdent les mêmes allèles que

les chevaux gris des autres races. Il existe donc d'autres variations génétiques qui modifient l'expression du phénotype (Sundström *et al.*, 2012).

Photo 33 : Poney Connemara présentant un grisonnement très tardif (> 14 ans)

(Source : Sundström *et al.*, 2012.)



B. Locus Rouan (*KIT*)

Le rouan (*classic roan* en anglais) est un pattern de poils blancs bien défini. Les poils blancs sont dispersés sur le corps en densité variable selon les individus (Photo 34), mais ils épargnent les membres et la tête (on parle de tête cap de maure) (Photo 35). Il existe une cyclicité annuelle, au gré des saisons : ainsi un cheval rouan sera plus clair au printemps, plus foncé en été, et le pattern disparaît presque en hiver (Photos 36 a, b et c). En revanche il est non évolutif dans le temps : le poulain naît avec le pattern (ou il apparaît rapidement) et la proportion de poils blancs n'augmente pas au fil des années, contrairement au gris (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photo 34 : Pattern rouan sur base baie. Les poils blancs sont mélangés à la robe de base, et la densité varie selon les individus et les saisons.

(Source : photo de Chloé Aubourg.)

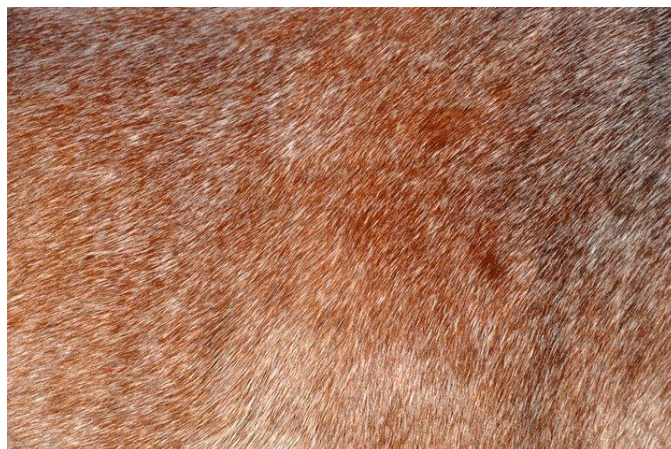


Photo 35 : Jument Quarter-Horse noir granité (*blue roan* en anglais) : le pattern épargne bien la tête et les membres, ce qui laisse apparaître la robe de base.

(Source : photo personnelle.)



Photos 36 a, b et c : Poney Français de Selle bai granité (*red roan* en anglais) à 3 saisons différentes : au printemps, le pattern rouan est très prononcé et donne une robe extrêmement claire (a), en été où le pattern est moins prononcé (b) et en hiver où le pattern disparaît presque complètement (c).

(Sources : (a) photo personnelle, (b et c) photos de Chloé Aubourg)



Le pattern rouan se surajoute à une robe de base, qui peut être n'importe simple (alezan, bai, noir), diluée (isabelle, *dun*, etc.) ou même à panachure (tobiano, overo, etc.).

Le terme « rouan » est assez confus en français, car dans la nomenclature française FFE populairement répandue, il est défini par une robe composée d'un mélange de poils blancs, fauves et noirs. Avec une telle définition un cheval de base baie ou alezane grisonnant peut être dit rouan, or c'est inexact puisqu'il deviendra gris plus ou moins rapidement. Le terme « aubère » de cette même nomenclature correspond à l'alezan granité (pattern rouan sur une base alezane) (Photo 37)

mais aussi à l'alezan grisonnant (Photo 31). Afin d'éviter ces confusion, l'FCE recommande aujourd'hui d'utiliser les termes « granité » (pour le pattern rouan, non évolutif) et « mélangé » (faiblement, fortement..., pour le pattern grisonnant) après la robe de base. Dans la nomenclature américaine, des adjectifs sont attribués en fonction de la robe de base (ex : *strawberry* (alezan), *blue* (noir), *red* (*bai*) etc.) (Sponenberg et Bellone, 2017). Ce pattern est retrouvé dans de nombreuses races, en particulier l'Ardennais. Cependant, il n'existe pas chez le Pur-Sang Arabe ; les arabes à qui l'on attribue parfois la robe « rouan » sont en réalité rabicano (voir *Deuxième partie.4*) (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photo 37 : Cheval alezan granité (pattern rouan sur une base alezane), ou « aubère » selon l'ancienne nomenclature.

(Source : <https://www.deviantart.com/xrockinrobynstock/art/Strawberry-Roan-108162057>)

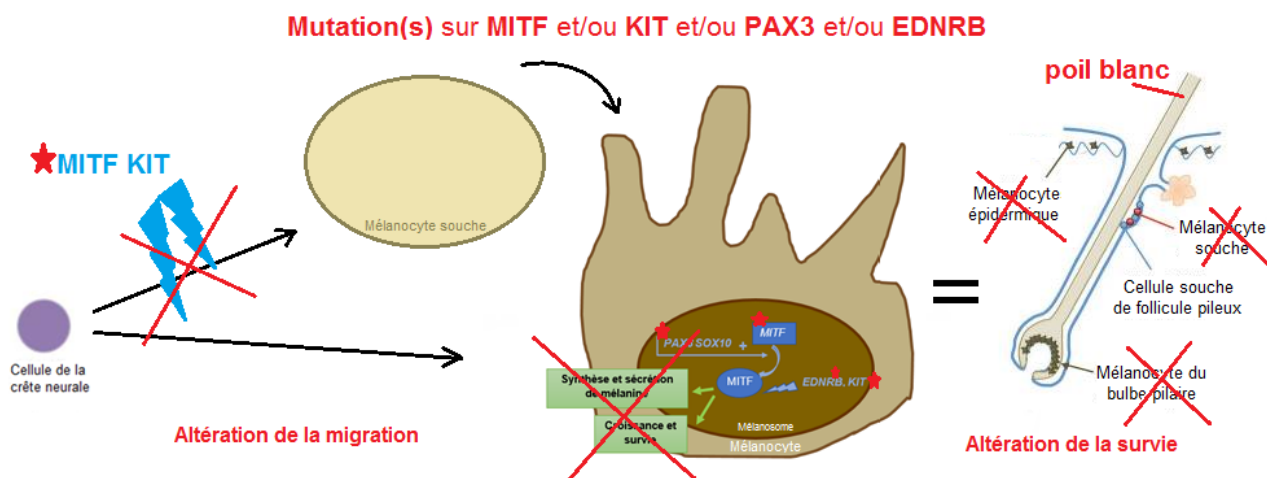


L'allèle rouan est localisé sur le gène *KIT*. Celui-ci a été localisé par des marqueurs associés, mais la mutation précise n'a pas encore été mise en évidence. L'allèle sauvage est noté rn^+ et l'allèle muté, Rn^{Rn} , est dominant (Sponenberg et Bellone, 2017).

Le mécanisme moléculaire entraîne le pattern rouan (ou granité) n'est pas connu, mais les grandes lignes des mécanismes moléculaires qui entrent en jeu sont admises et valables pour la plupart des autres patterns de panachure (dominant white, tobiano, overo). Les gènes *KIT* et *MITF* sont indispensables au développement de la population mélanocytaire et à sa survie. L'altération de l'expression d'un de ces gènes résulte en la perturbation de la migration et de la survie des mélanocytes (Roydon Price et Fisher, 2001 ; Mort *et al.*, 2015). Les gènes *PAX3*, *EDNRB* et *KIT* interviennent également dans l'expression de *MITF* et le fonctionnement de *MITF*, ainsi leur mutation perturbe également la migration et la survie mélanocytaires par l'intermédiaire de leur action sur *MITF* (Figure 8) (Roydon Price et Fisher, 2001).

Figure 8 : Effets des mutations des gènes *MITF*, *KIT*, *PAX3* et *EDNRB* sur la mélanogenèse et sur le développement et le fonctionnement mélanocytaire.

(Source : composition personnelle à partir d'éléments de Mort *et al.*, 2015)



Jusque très récemment, on associait l'homozgotie pour l'allèle rouan à de la mortalité embryonnaire, en raison des proportions observées de poulains rouans obtenus par croisement de deux parents rouans. Désormais grâce au test génétique, on connaît des étalons homozygotes pour *Rn^{Rn}* de différentes races, ainsi l'hypothèse de mortalité embryonnaire a été abandonnée ; la différence entre les proportions attendue et observée s'expliquerait par une expressivité variable du phénotype rouan. En effet certains chevaux ont un pattern rouan tellement discret que l'on ne voit pas qu'ils sont porteurs de l'allèle rouan (Sponenberg et Bellone, 2017).

Ainsi le test génétique permet aux éleveurs de déterminer la zygotie de leurs reproducteurs pour le pattern rouan afin de réaliser des croisements maximisant les chances d'obtenir un poulain avec (ou au contraire sans) pattern rouan. C'est également un outil qui permet de lever le doute sur un pattern discret.

Une variation du rouan classique (*classic roan* en anglais) est le *frosty roan*. Celui-ci se manifeste de la même façon que le rouan, mais des poils blancs sont également présents sur la tête et des crins blancs dans la crinière et la queue. La mutation responsable n'est pas connue (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photo 38 : Percheron *frosty roan* ; des poils blancs parsèment son chanfrein et des crins blancs sont présents dans sa crinière et sa queue.

(Source : Sponenberg et Bellone, 2017)



C. Locus « *Dominant White* » ou blanc dominant (gène *KIT*)

La robe blanche (*white* en anglais) est caractérisée par des poils et des crins tous blancs sur une peau rose (Photo 40 et Photo 39). Les yeux noirs des chevaux blancs permettent parfois de distinguer plus facilement le blanc du *cremello* qui a toujours les yeux bleus. On parle plutôt de *dominant white* lorsque subsistent des zones encore colorées, généralement dispersées et près des oreilles ou sur la ligne du dos (Photo 41).

Photo 39 : Ponette de selle de robe blanche.

La peau entièrement rose, visible en particulier sur la tête, et les yeux noirs permettent de la différencier d'une robe cremello (Source : photo personnelle).



Photo 40 : Pouliche Trotteur Italien nommée « Via Lattea », portant une robe entièrement blanche. Sa peau est rose et ses yeux sont noirs.

(Source : Capomaccio et al., 2017.)



Photo 41 : Poulain Franches-Montagnes portant une robe *dominant white*.

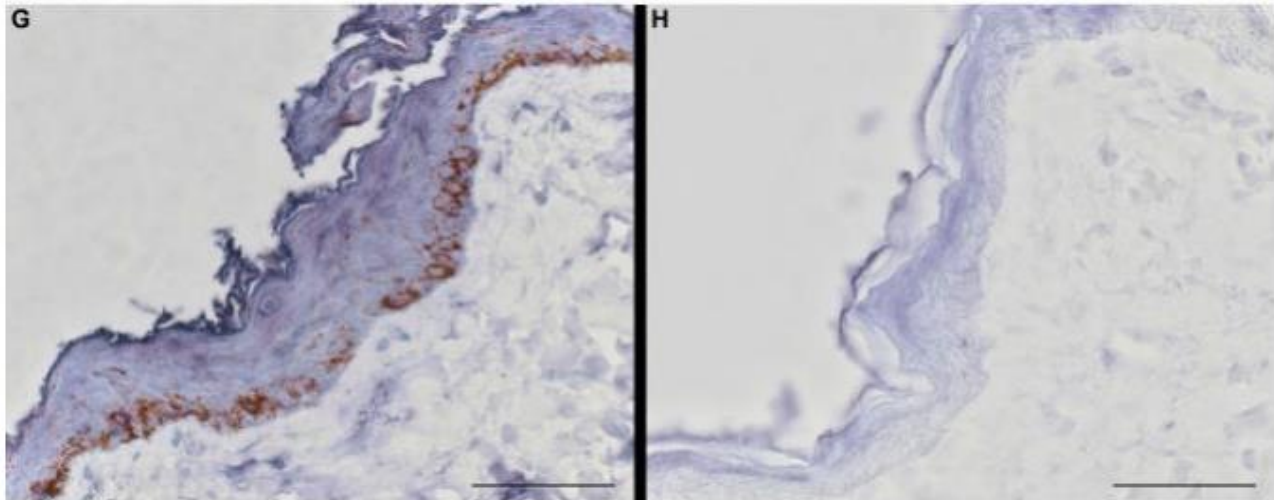
Les zones encore colorées sont dispersées et plutôt près des oreilles et de la ligne du dessus. Cette robe ici est proche du pattern sabino (Source : Haase et al., 2007).



Le premier allèle *Dominant White W1* a été découvert chez des chevaux Franches-Montagnes. Il s'agit d'une substitution sur l'exon 15 du gène *KIT*, conduisant à une mutation non-sens qui tronque prématurément la protéine KIT. A l'état hétérozygote il provoque une robe blanche ou majoritairement blanche (Haase et al., 2007).

KIT est un gène essentiel à la migration et à la survie des mélanocytes. Les altérations de ce gène peuvent aboutir en des défauts de migration ou de survie, résultant en une dépigmentation plus ou moins étendue (Photos 42 et voir *Deuxième partie.3.B*, Figure 8).

Photos 42 : Biopsies cutanées d'un cheval coloré (à gauche) et d'un cheval *dominant white* (DW) (à droite). La mélanine apparaît en marron par marquage immunohistochimique (Source : Haase *et al.*, 2007).



Dans la foulée, trois autres allèles ont été mis en évidence : *W2* chez le Pur-Sang, *W3* chez le Pur-Sang Arabe et *W4* chez le Camarillo White (Haase *et al.*, 2007).

Par la suite plusieurs familles indépendantes de chevaux de différentes races ont été étudiées et ont permis la mise en évidence de l'existence d'un grand nombre d'allèles du gène *KIT*. Dans chacune de ces familles, tous les chevaux blancs ou presque blancs étaient hétérozygotes pour une mutation sur *KIT* tandis que les chevaux apparentés non blancs et les chevaux contrôles ne la portaient pas. Ils ont ainsi découvert sept nouveaux allèles *W5* à *W11* (Haase *et al.*, 2009). Dans d'autres études similaires, les allèles *W13* à *W17* ont été mis en évidence, respectivement chez des chevaux Quarter Horse croisés, Pur-Sang, Arabe, Oldenbourg et Trait Japonais (Haase *et al.*, 2011a ; Holl *et al.*, 2017) . En 2015 un cheval Islandais parsemé de blanc portait un nouvel allèle, *W21* (Haase *et al.*, 2015).

Les principaux écueils de ces études sont le faible nombre d'individus et l'absence de validation sur l'impact fonctionnel des mutations découvertes, excepté pour *W1* pour lequel une électrophorèse attestant l'existence de protéine mutée apporte un élément de preuve. Par ailleurs, certains individus de l'étude pourraient être simplement des poulains « mosaïques », c'est-à-dire pour lesquels la mutation est survenue de manière précoce lors du développement embryonnaire, notamment pour la mutation *W8*. Les poulains auraient donc deux types cellulaires : avec *KIT* fonctionnel ou non. Cependant, les mutations sur le gène *KIT* sont connues pour causer des phénotypes similaires dans de nombreuses autres espèces de Mammifères, ce qui fait malgré tout de ces variants génétiques de bons candidats pour les phénotypes observés (Haase *et al.*, 2009 ; Sponenberg et Bellone, 2017).

D'autres équipes, avec des méthodes d'étude similaires, ont mis par la suite en évidence encore d'autres allèles, chez d'autres races : *W12* chez le Pur-Sang (Holl *et al.*, 2010), *W22* chez le Pur-Sang (N. Dürig *et al.*, 2017), *W23* chez l'Arabe (Holl *et al.*, 2017), *W24* chez le Trotteur Italien (Capomaccio *et al.*, 2017), *W25*, *W26* et *W27* chez le Pur-Sang (Capomaccio *et al.*, 2017 ; Hoban *et al.*, 2018) et *W28* chez le Poney de Selle Allemand (Hug *et al.*, 2019). La pouliche porteuse de l'allèle *W24* (Photo 40) est le seul individu porteur de cet allèle. A ce jour il n'y a pas de preuve de

la fonctionnalité de cet allèle, mais la descendance future de la pouliche apportera probablement des réponses.

W20 est un allèle atypique, il s'agit en fait d'un polymorphisme d'abord identifié en 2007 auquel aucune fonctionnalité n'avait été attribuée (Haase *et al.*, 2007). C'est seulement en 2013 qu'un effet subtil sur la pigmentation est attribué à ce polymorphisme : *W20* entraîne une augmentation discrète de l'étendue des marquages blancs (Photos 43 a et b) (Hauswirth *et al.*, 2013). En effet, associé à l'allèle *W5* ou *W22*, *W20* est également responsable d'une dépigmentation significativement plus importante que lorsque les allèles *W5* ou *W22* sont seuls à l'état hétérozygote (Hauswirth *et al.*, 2013 ; N. Dürig *et al.*, 2017) (Photos 44) : le cheval est alors (presque) complètement blanc. C'est un allèle singulier car c'est le seul découvert à ce jour qui soit présent dans de nombreuses races et qui soit à l'état homozygote.

Photos 43 a et b : Effet subtil de l'allèle *W20* sur la pigmentation : les marques en tête et les balzanes sont discrètement plus étendues.

A gauche un Pur-Sang *W20/+*, à droite un Pur-Sang *W20/W20* (Source : Hauswirth *et al.*, 2013).



Photos 44 a et b : Exemple de l'effet « augmentateur de blanc » de l'allèle *W20*.


A gauche, un Pur-Sang *W5/+*, à droite un Pur-Sang *W5/W20* dont la robe est complètement blanche (Source : Hauswirth *et al.*, 2013).














Pour résumer, la robe blanche, ou presque blanche avec une pigmentation résiduelle plus ou moins étendue, est due à de très nombreuses mutations spontanées sur le gène *KIT* (Haase *et al.*, 2009 ; Sponenberg et Bellone, 2017). A ce jour, on dénombre 28 allèles, consignés dans le Tableau





6. L'allèle *W20* est le seul allèle à être présent dans de très nombreuses races, mais il est responsable d'effets subtils sur la pigmentation et peut ainsi passer inaperçu lorsqu'il est présent seul à l'état hétérozygote ou homozygote. Tous les autres allèles découverts jusqu'à ce jour sont spécifiques de race. Le Pur-Sang est de loin la race dans laquelle le plus grand nombre d'allèles ont été identifiés (dix allèles), suivie par l'Arabe (trois allèles). Il est ainsi impossible de déterminer le génotype d'un cheval à partir de sa robe blanche ou presque blanche ; en effet d'une part certains allèles sont à l'origine d'une grande diversité phénotypique (par exemple *W1*, *W5* et *W11*), allant de la robe complètement blanche, à des robes tachetées, parfois proches du pattern Sabino ou Splashed White, et d'autre part le nombre d'allèles découvert ne cesse de croître. Certains allèles sont à priori responsables de robes complètement blanches, mais le nombre trop faible de chevaux porteurs de ces allèles ne permet pas d'exclure une diversité plus grande. Le gène *KIT* présente donc une très grande diversité allélique chez le cheval. Toutefois cela n'implique pas que son taux de mutation soit plus élevé que celui d'un autre gène : les phénotypes engendrés par ces mutations spontanées augmentent simplement les chances de les reconnaître (Haase *et al.*, 2009).





Tableau 6 : La diversité allélique du gène *KIT* responsable de la robe blanche ou *Dominant White* et ses effets phénotypiques.

ALLELE	RACE	MUTATION	EFFETS PHENOTYPIQUES
<p><i>W1</i></p> <p>Haase <i>et al.</i>, 2007</p>	Franches-Montagnes	<p>Substitution (C>G) dans l'exon 15</p> <p>Non-sens : Protéine KIT tronquée au milieu du domaine de liaison de la kinase</p>	 <p>The 'EFFETS PHENOTYPIQUES' column contains three photographs labeled A, B, and C. Image A shows a white horse with some light brown patches. Image B shows a horse with a mix of white and brown patches. Image C shows a white horse with a light brown mane and tail.</p>

<p>W2</p> <p>Haase <i>et al.</i>, 2007</p>	Pur-Sang	Substitution (G>A) dans l'exon 13	Faux-sens : remplacement d'une glycine par une arginine dans le domaine intracellulaire tyrosine kinase	
<p>W3</p> <p>Haase <i>et al.</i>, 2007</p>	Arabe	Substitution (A>T) dans l'exon 4	Non-sens : protéine tronquée prématurément	
<p>W4</p> <p>Haase <i>et al.</i>, 2007</p>	Camarillo White	Substitution (C>T) dans l'exon 12	Faux-sens : remplacement d'une petite chaîne par une grande chaîne dans le domaine intracellulaire tyrosine kinase	
<p>W5</p> <p>Hauswirth <i>et al.</i>, 2013 ; Haase <i>et al.</i>, 2009</p>	Pur-sang	Délétion d'1 pb sur exon 15	Non-sens : Protéine KIT tronquée au milieu du domaine de liaison de la kinase	  

				
				W5/+
W6 Haase <i>et al.</i> , 2009	Pur-sang	Substitution (G>A) dans l'exon 5	Faux sens : remplacement d'une glycine par une arginine dans le domaine extracellulaire de liaison du ligand	
				W6/+
W7 Haase <i>et al.</i> , 2009	Pur-sang	Substitution (G>C) dans le site d'épissage 3' de l'intron 2		
				W7/+
W8 Haase <i>et al.</i> , 2009	Cheval Islandais	Substitution (G>A) dans un site d'épissage de l'intron 15		
				W8/+
W9 Haase <i>et al.</i> , 2009	Holstein	Substitution (G>A) dans l'exon 12	Faux-sens : remplacement d'une glycine par une arginine dans le domaine intracellulaire tyrosine kinase	
				W9/+






<p>W10</p> <p>Haase <i>et al.</i>, 2009</p>	<p>Quarter Horse</p>	<p>Délétion de 4 paires de bases (pb) dans l'exon 7</p>	<p>Non-sens : Protéine tronquée dans son domaine extracellulaire</p>	 <p>W10/+</p>  <p>W10/+</p>
<p>W11</p> <p>Haase <i>et al.</i>, 2009</p>	<p>Trait allemand du sud</p>	<p>Substitution (G>A) dans le site d'épissage 5' de l'intron 20</p>		 <p>W11/+</p>
<p>W12</p> <p>Holl <i>et al.</i>, 2010</p>	<p>Pur-Sang</p>	<p>Délétion de 5 pb dans l'exon 3</p>	<p>Non-sens : protéine KIT sévèrement tronquée</p>	 <p>Mort du poulain muté à l'âge de cinq semaines</p>
<p>W13</p> <p>Haase <i>et al.</i>, 2011</p>	<p>Croisé Quarter-Horse</p>	<p>Substitution (G>C) dans le site d'épissage 5' de l'intron 17</p>		<p>Deux chevaux blancs</p>
<p>W14</p> <p>Haase <i>et al.</i>, 2011</p>	<p>Pur-Sang</p>	<p>Délétion de 54 pb sur l'exon 17</p>	<p>Non-sens</p>	<p>Un cheval totalement blanc</p>


<p>W15</p> <p>Haase <i>et al.</i>, 2011 ; Holl <i>et al.</i>, 2017 (photo)</p>	Arabe	Substitution (T>C) sur l'exon 10	Faux-sens	 <p>(a)</p> <p>Hétérozygote : dépigmentation partielle (jument ci-dessus) Homozygote : blanc complet (poulain ci-dessus)</p>
<p>W16</p> <p>Haase <i>et al.</i>, 2011</p>	Oldenbourg	Substitution (A>T) sur l'exon 17	Faux-sens	Trois chevaux presque totalement blancs
<p>W17</p> <p>Haase <i>et al.</i>, 2011</p>	Cheval de trait japonais	Deux substitutions (A>T ; T>C) à 20 nucléotides d'intervalle dans l'exon 12	Deux faux-sens	Un cheval complètement blanc avec un œil bleu
<p>W18</p> <p>Hauswirth <i>et al.</i>, 2013</p>	Cheval de selle suisse	Dans le site d'épissage de l'intron 8		 <p>W18/+</p>
<p>W19</p> <p>Hauswirth <i>et al.</i>, 2013</p>	Croisé Arabe	Substitution (A>G) sur l'exon 8	Faux-sens : remplacement d'une tyrosine par une cystéine	 <p>W19/+</p>
<p>W20</p> <p>Hauswirth <i>et al.</i>, 2013</p>	Nombreuses races	Substitution (G>A) sur l'exon 14	Faux-sens → remplacement d'une arginine par une histidine	 <p>W20/+</p>



Augmentation de blanc,
notamment associés à
d'autres allèles W



W21 Haase <i>et al.</i> , 2015	Cheval Islandais	Délétion dans l'exon 17	Non-sens → protéine tronquée dans le domaine tyrosine kinase intracellulaire	
W22 N. Dürig <i>et al.</i> , 2017	Pur-Sang	Délétion de 1858 pb et addition de 5pb sur les exons 10 et 13	Non-sens → protéine tronquée, perte de 150 acides aminés	Sabino-like à totalement blanc
				 W22/+
				 W22/+
				 W22/+
W23 Hauswirth <i>et al.</i> , 2013	Arabe	Dans le site d'épissage de l'intron 4		(b) 

W24 Capomaccio <i>et al.</i> , 2017	Trotteur Italien	Dans le site d'épissage de l'intron 16		
W25 Hoban <i>et al.</i> , 2018	Pur-Sang	Substitution (T>C) dans l'exon 4	Faux-sens : leucine > proline	Un individu blanc
W26 Hoban <i>et al.</i> , 2018	Pur-Sang	Délétion d'1 pb exon18	Faux-sens : sérine > valine	Pattern <i>dominant white</i> atypique
W27 Hoban <i>et al.</i> , 2018	Pur-Sang	Substitution (T>G) dans l'exon 9	Faux-sens : cystéine > tryptophane	Un individu blanc et un individu presque blanc
W28 Hug <i>et al.</i> , 2019	Poney de Selle Allemand	Délétion de 1273 pb dans les exons 2 et 3	Phénotype sabino-like, avec de grandes taches blanches sur le corps, des marques blanches extensives sur la tête et les membres blancs	

Ainsi les nombreux allèles, responsables de patterns de dépigmentation, témoignent du rôle clé du gène *KIT* dans la migration des mélanocytes lors du développement embryonnaire, puis à leur survie (Figure 8). Il participe également à la régulation de la mélanogenèse.

D. Locus Tobiano (gène *KIT*)

Dans la panachure Tobiano, les plages de dépigmentation sont plutôt orientées verticalement et traversent la ligne du dos. Elles sont distinctes et régulières, souvent rondes à ovales. Les flancs sont souvent colorés tandis que la queue est bicolore (Photos 45). La tête est presque toujours colorée et les yeux sont noirs. Les marquages en tête sont similaires à ceux des chevaux ne présentant pas de pattern. Souvent quatre balzanes sont présentes (Santschi *et al.*, 2001 ; Sponenberg *et Bellone*, 2017).

Photos 45 : Cheval et poney présentant un pattern tobiano sur base noire et alezane.

(Source : photos de Chloé Aubourg)



Photo 46 : Cheval ONC présentant un pattern tobiano sur une robe de base baie.

(Source : photo personnelle)



L'allèle dominant responsable de la panachure Tobiano est noté *TO*. La mutation qui entraîne ce phénotype est localisée sur le bras long du chromosome 3. Il s'agit d'une inversion qui concerne près d'un tiers de la longueur du chromosome, ce qui constitue la plus grande inversion connue sans maladie associée. L'extrémité distale (3') est localisée entre les gènes *KDR* et *KIT* (ECA3.q21, à 70 kb du gène *KIT*) tandis que l'extrémité proximale se situe entre les gènes *ADH1C* et *PDLIM5* qui n'est pas une zone exprimée chez l'Homme. (Brooks *et al.*, 2007).

Toutefois l'inversion tobiano ne perturbe la séquence codante d'aucun gène connu, ainsi le mécanisme moléculaire sous-jacent n'est pas encore élucidé. Cependant chez la Souris, il existe deux inversions du chromosome 3 qui sont à l'origine de patterns dépigmentés, de phénotypes similaires à tobiano, dont les mécanismes moléculaires sont connus. En prenant en compte ces connaissances, l'hypothèse retenue est que l'inversion tobiano perturbe une région non codante ou régulatoire très conservée du gène *KIT*, qui conduit à une expression temporellement et spatialement inappropriée de *KIT* dans l'embryon (Brooks *et al.*, 2007). Or, pour rappel, *KIT* est le gène clé de la migration et de la survie des mélanocytes.

Avant la découverte de la mutation supposée causative, certains marqueurs génétiques étaient utilisés pour connaître la zygosity pour tobiano. En effet, le pattern tobiano est très souvent associé, mais pas toujours, à un haplotype particulier : *ALB-B*, *GC-F* et *KM1*, ce qui signifie que la mutation à l'origine du pattern est apparue dans un chromosome possédant ces allèles. Notamment, l'allèle *KM1* correspond à une mutation par substitution d'un C par un G sur l'intron 13 de *KIT*, tandis que *KM0* représente l'allèle sauvage. Il a été montré qu'il existe une forte association entre *KM1* et le phénotype tobiano, malgré l'existence de quelques chevaux non tobiano porteurs de l'allèle *KM1* (Brooks *et al.*, 2002). Cependant, une étude plus récente a montré que l'inverse existe également : notamment 14% des chevaux tobiano de race Lewitzer étudiés étaient homozygotes pour *KM0*, ce qui rend l'utilisation de ce marqueur génétique peu fiable (Haase *et al.*, 2008). Ces trois allèles n'étant pas retrouvés chez tous les phénotypes tobiano mais présents également chez certains chevaux non tobiano, aucun d'entre eux n'est donc responsable du pattern. Des mutations et des recombinaisons ultérieures sont à l'origine de ces nouveaux haplotypes (Brooks *et al.*, 2007).

Le Tobiano est un caractère complètement dominant, la zygosity pour le tobiano n'influence pas le pattern : le phénotype ne permet pas de différencier un cheval hétérozygote d'un cheval homozygote pour l'allèle *TO*.

L'allèle tobiano est présent dans de très nombreuses races de poneys et de chevaux, ce qui signifie que son apparition est antérieure à la fondation des races de chevaux modernes (Brooks *et al.*, 2007 ; Haase *et al.*, 2008). Une étude estime son apparition peu après la domestication, soit environ entre 4000 et 3500 ans avant J-C (Wutke *et al.*, 2016).

D'autre part, les chevaux portant l'allèle tobiano, aussi bien à l'état hétérozygote qu'homozygote, sont normaux et en bonne santé. La littérature rapporte l'association de réduction de fertilité avec certaines inversions chromosomiques, par formations de gamètes déséquilibrés. Cette condition n'est pas rapportée chez les chevaux porteurs de tobiano, cependant il est possible qu'elle existe mais qu'elle ne soit pas remarquée en raison d'une conduite d'élevage davantage tournée vers la « qualité » (pattern tobiano) que la quantité (un poulain par an par jument) (Brooks *et al.*, 2007).

E. Le pattern Overo

Le pattern overo est caractérisé par des plages de dépigmentation sur l'abdomen qui peuvent s'étendre dorsalement mais sans jamais traverser la ligne du dos. La tête présente souvent un marquage blanc extensif et au moins un membre reste pigmenté (Photo 47) (Santschi *et al.*, 2001). Ainsi, par opposition au pattern tobiano dont les plages de dépigmentation sont plutôt verticales, elles sont horizontales chez l'overo.

Photo 47 : Jument American Paint Horse présentant un pattern overo (sous type *frame blend*) sur une base baie.

Les plages dépigmentées sont globalement horizontales et ne dépassent pas la ligne du dos, le marquage de la tête est extensif (source : <https://www.deviantart.com/shi-stock/art/Finney-3-141580668>).



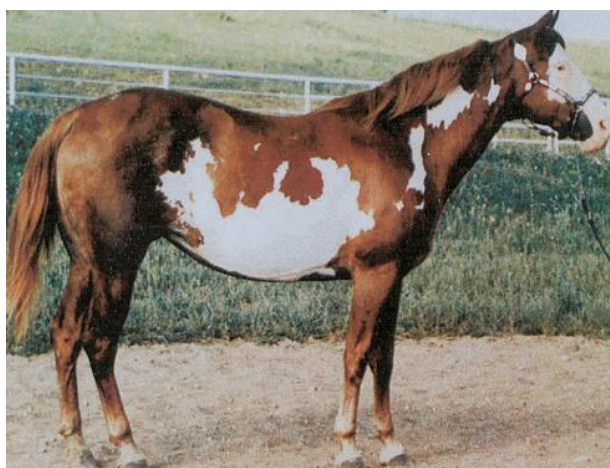
La notion de pattern overo est complexe : usuellement il désigne en fait un groupe de plusieurs sous-types de patterns car ceux-ci sont la plupart du temps combinés et parce que cette nomenclature a été réalisée avant la découverte de la génétique qui les régit. Les sous-types de l'overo sont *frame*, *calico*, *splashed-white*, *sabino* et *medicine hat*. Lorsqu'un cheval présente plusieurs sous-types à la fois, ce qui est fréquent, on distingue les chevaux dits *frame blend* (Photo 47) (ils présentent le sous-pattern *frame* et un autre, c'est le plus répandu) et les *overo blend* (ou *non frame overo blend*) (Santschi *et al.*, 2001). Dans cette thèse, il est choisi de traiter les patterns *splashed-white* et *sabino* indépendamment du reste et de les considérer comme des patterns à part entière : en effet la découverte de la génétique sous-jacente n'est pas la même que pour le sous pattern *frame*.

a. Sous-pattern *Frame* (gène *EDNRB*)

Le sous pattern *frame* désigne un cheval overo avec des spots distincts avec des bordures très nettes sur les parties latérales du corps et qui ne se connectent pas aux balzanes. Au moins un membre reste coloré, et les balzanes sont habituellement en dessous du carpe ou du tarse. La tête est souvent largement marquée avec une dépigmentation qui s'étend au-delà des yeux (Photo 48) (Santschi *et al.*, 2001).

Photo 48 : Cheval présentant le sous-pattern frame.

(Source : Santschi *et al.*, 2001)



L'allèle « overo » est une mutation faux-sens par substitution de deux nucléotides (TC>AG) dans le codon 118 résultant en la substitution d'une isoleucine par une lysine dans le gène *Endothelin receptor type B (EDNRB)* qui code pour le récepteur à l'endothéline de type B (EDNRB). Ce récepteur est une protéine G à sept domaines transmembranaires et la mutation est située dans son domaine transmembranaire. L'isoleucine est non polarisée tandis que la lysine qui la remplace dans l'allèle muté est chargée positivement, ce qui entraîne un changement de conformation de la protéine et donc probablement des conséquences fonctionnelles notamment sur la fonction de récepteur (Santschi *et al.*, 1998 ; Metallinos *et al.*, 1998).

L'allèle « overo » est nommé *Lys118*, il est dominant et est seulement responsable du sous-pattern *frame*, mais pas de l'ensemble des sous-pattern overo (Metallinos *et al.*, 1998 ; Santschi *et al.*, 2001). En effet de nombreux chevaux classés « overo », notamment les « calicos » sont homozygotes pour l'allèle sauvage (*Ile118*).

Certains chevaux classés « *splashed white* », « *sabino* » ou même « *tobiano* » sont cependant porteurs de l'allèle muté : ces chevaux sont en réalité des « *frame blend* » mal classés car la présence du pattern *frame* est masquée par ces autres patterns. Enfin, quelques chevaux sans aucun pattern apparent sont tout de même porteurs de *Lys118*, ce qui signifie qu'il existe probablement d'autres gènes qui masquent l'expression du sous-pattern *frame* (Santschi *et al.*, 2001).

L'homozygosité pour *Lys118* est associée au syndrome léthal du poulain blanc (*Overo Lethal White (Foal) Syndrome* ou OLW(F)S), traité en *Troisième partie. 6*.

b. Sous pattern *Calico*

Le sous pattern « *calico* » désigne un cheval overo avec des marques blanches disséminées et aux bordures irrégulières. Au moins un membre est blanc et les balzanes ont des extensions étroites au-dessus des membres qui connectent souvent aux marquages du corps. Les marques en tête sont irrégulières et peuvent être larges mais n'impliquent généralement pas les yeux (Photo 49) (Santschi *et al.*, 2001).

**Photo 49 : Cheval présentant le sous pattern calico.
(Source : Santschi *et al.*, 2001)**



La mutation génétique à l'origine de calico n'est à ce jour pas connue. Il est cependant important de préciser à nouveau que l'allèle *Lys118* n'en est pas responsable. Les chevaux classés « calico » hétérozygotes pour cet allèle sont en fait des chevaux *frame blend* dont le phénotype n'a pas été correctement reconnu.

c. Sous pattern Tovero

Ce pattern est en fait une combinaison de patterns : il réunit à la fois les caractéristiques de l'overo et du tobiano (Photo 50). Classiquement il est obtenu par le croisement d'un cheval tobiano et d'un cheval overo (Santschi *et al.*, 2001 ; Sponenberg et Bellone, 2017). Il n'est pas toujours porteur de l'allèle *Lys118*, en effet il ne résulte pas toujours d'un sous pattern *frame* (Santschi *et al.*, 2001).

**Photo 50 : Ce cheval présente un pattern tovero ; le pattern tobiano et le sous-pattern frame se superposent et ne sont plus reconnaissables.
(Source : Sponenberg et Bellone, 2017)**



d. Sous-pattern *Medicine hat*

Ce sous-pattern est également une combinaison de pattern, mais plus dépigmentée et spécifique que tovero. Un cheval *medicine hat* présente une robe presque totalement blanche excepté autour des oreilles et de la nuque. Il reste parfois des plages pigmentées sur le thorax, les flancs, la ligne dorsale ou la base de la queue (Photo 51) (Santschi *et al.*, 2001).

Photo 51 : Un cheval de race American Paint Horse présentant le sous-pattern *medecine hat* sur une robe de base noire.

Seules sa nuque, ses oreilles et la base de sa queue sont pigmentées (source : <https://www.deviantart.com/honey-hill/art/Paint-Stock-05-274104185>).

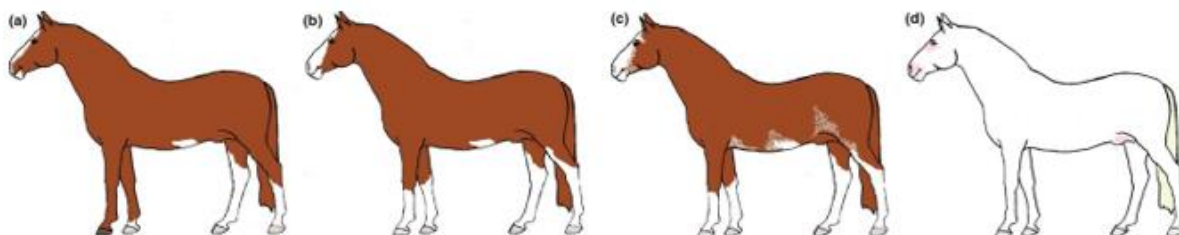


Les mécanismes génétiques sous-jacents sont multiples et sont que partiellement connus. Certains chevaux « *medicine hat* » ne sont finalement que des combinaisons de pattern overo ou tobiano, ou éventuellement des patterns *splashed white* très extensifs. De même que pour le sous-pattern tovero, ils ne sont pas toujours porteurs de l'allèle *Lys118* (Sponenberg *et al.*, 1990 ; Santschi *et al.*, 2001).

e. Locus *Sabino* (gène *KIT* + autres gènes)

Le pattern sabino a été défini par Geurts en 1977 par la présence de trois des quatre critères suivants : (i) au moins deux balzanes ou pieds blancs, (ii) une liste large étendue à toute la longueur de la face, (iii) irrégularité des contours des taches blanches, (iv) de petites taches blanches ou de du « *roaning* » (un aspect rouané, c'est-à-dire des poils blancs mélangés à la robe de base) sur l'abdomen.

Figure 9 : Exemples de chevaux de phénotype sabino1 selon les critères établis par Geurts. (Source : Druml *et al.*, 2018.)



Pour simplifier, le pattern sabino est donc caractérisé principalement par la présence de balzanes plus ou moins extensives et de marques sur la tête. Il peut y avoir des taches blanches sur le ventre, qui dans certains cas extrêmement minimalistes se limitent à une petite marque blanche bien délimitée, mais qui pour la plupart remontent sur les flancs de manière plus ou moins déchiquetée (Photo 52). La robe de base a la plupart du temps un aspect rouané, bien que le cheval ne soit pas porteur de l'allèle classique rouan (pas de tête cap de maure). Le pattern sabino est ainsi plus ou moins extensif ; il peut être limité à de grandes balzanes et une marque sous le ventre (Photos 53), ou au contraire dans les cas de sabino maximal, le cheval est presque entièrement blanc (excepté autour des oreilles) (Photo 54) à totalement blanc (Figure 9) (Sponenberg et Bellone, 2017).

Phénotypiquement, le pattern sabino se recoupe donc avec les phénotypes obtenus par l'expression des divers allèles *dominant white*, donnant un panel infini de robes : d'une robe « *sabino-like* » au blanc immaculé. C'est un pattern très répandu dans de nombreuses races, notamment sous sa forme minimaliste.

Photo 52 : Cet étalon présente le pattern sabino sur une robe de base alezane.

Il porte 4 balzanes haut chaussées qui remontent proximement et sous le ventre de manière déchiquetée, une large liste et un fond de robe fortement rouané (source : <https://www.deviantart.com/xrockinrobystock/art/Danaway-Tango-13-138745196>).



Photos 53 : Hongre Selle Français de robe alezane portant un pattern sabino très discret.

Il porte 4 balzanes dont 3 hautes chaussées et irrégulières proximement, une liste large, des taches blanches sous le ventre et un fond de robe rouané (source : photos personnelles).



Photo 54 : Cheval Clydesdale présentant un pattern sabino extensifs.

Les plages de dépigmentations sont très irrégulières principalement centrées sur les zones ventrales (source : [escapist1901@deviantart](#)).



La génétique qui régit le pattern sabino est aussi complexe que sa définition.

L'allèle sabino-1, noté *SB1*, responsable d'un phénotype sabino a été mis en évidence sur le gène *KIT*. Cet allèle est à dominance incomplète, ainsi les individus homozygotes sont presque blancs tandis que les hétérozygotes sont moyennement colorés (Brooks et Bailey, 2005). C'est un allèle assez répandu, notamment chez le Tennessee Walking Horse et le Missouri Fox Trotter, mais absent chez certaines races comme le Pur-Sang Arabe et le Clydesdale, bien que celles-ci peuvent pourtant porter une robe sabino (Brooks et Bailey, 2005). L'allèle *SB1* est dû à une substitution d'une base T par une base A à proximité du site d'épissage de l'exon 17. L'épissage en est perturbé car c'est une zone très conservée, et les chevaux porteurs de *SB1* produisent des protéines KIT plus courtes en raison de l'absence de l'exon 17. Cette protéine mutée est moins ou non fonctionnelle car l'exon 17 code pour une portion d'un du deuxième domaine tyrosine kinase (Brooks et Bailey, 2005). L'allèle sauvage est noté *sb1⁺*.

Ainsi, les concepts de sabino et de dominant white sont compliqués à distinguer parce que les phénotypes se recoupent et parce qu'ils sont également génétiquement liés (allèles sur le gène *KIT*).

Photo 55 : Cheval alezan sabino *SB1/sb1⁺*.

(Source : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Sabino>)



Photo 56 : Jument sabino ($SB1/sb1^+$) et son poulain sabino-white ($SB1/SB1$).

(Source : Brooks et Bailey, 2005.)



Cependant, l'allèle $SB1$ ne permet pas d'expliquer tous les phénotypes sabino observés ; notamment les chevaux sabino de race Clydesdale (Photos 57) et Pur-Sang Arabe ne sont pas porteurs de cet allèle. Ceci suggère qu'une autre cause génétique détermine le pattern sabino (Brooks et Bailey, 2005). De plus, malgré la prévalence très élevée du phénotype sabino chez le Clydesdale, aucun individu blanc n'a été enregistré durant les 40 dernières années. Il est donc très improbable que le phénotype sabino puisse être entraîné uniquement par une dominance incomplète de l'allèle $SB1$ (Brooks et Bailey, 2005).

Malgré une association totale entre l'allèle $SB1$ et le phénotype sabino (Brooks et Bailey, 2005), une étude montre que la plupart des chevaux porteurs de l'allèle $SB1$ ne remplissent pas les critères phénotypiques attendus (Druml *et al.*, 2018), ce qui renforce la notion de complexité du déterminisme des robes à panachure. Des interactions de gènes modifient certainement l'expression des patterns.

Le pattern sabino peut donc se transmettre également sur un mode polygénique, mal connu. Il est alors transmis à la descendance de manière proportionnelle à la quantité de panachure des parents (Sponenberg et Bellone, 2017). Le sabino du Clydesdale et du Pur-sang arabe notamment sont exclusivement polygéniques (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photos 57 a et b : Chevaux Clydesdale présentant un pattern sabino d'origine polygénique.

(Sources : <https://www.flickr.com/photos/shadeofmelon/91586845> (à gauche) et <https://www.deviantart.com/luda-stock/art/Clydesdale-Sabino-Gelding-474766471> (à droite))



Les chevaux sabino ne semblent pas avoir de problèmes de santé particuliers. Les propriétaires ne rapportent pas de symptômes d'anémie ni de surdité, et nombre de ces chevaux sont des reproducteurs de grande valeur (Brooks et Bailey, 2005).

f. Locus *Splashed White* (gènes *MITF* et *PAX3*)

Outre les caractéristiques de l'overo, la première caractéristique du pattern *splashed white* est la dépigmentation extensive de la tête, souvent accompagnée par des yeux bleus. Cette dépigmentation peut aller d'une simple liste large à une « belle face » : la dépigmentation englobe les yeux et une partie des joues. Une caractéristique secondaire du pattern est la présence de grandes balzanes qui dépassent souvent le carpe et le tarse. Des petites taches blanches sur le ventre peuvent être présentes voire le ventre peut être totalement blanc. Les chevaux porteurs de ce pattern dans sa forme extensive ne gardent que la ligne dorsale colorée (Photos 58). Le pattern *splashed white* est aussi un pattern très variable, il passe parfois inaperçu (Santschi *et al.*, 2001 ; Hauswirth *et al.*, 2012).

Photos 58 : American Paint Horse présentant un pattern *splashed white* très extensif sur une base baie. Il présente également un œil bleu.

(Source : paintedeventer.deviantart.com)



Ce pattern n'est pas régi par un unique allèle, mais par trois allèles (*SW1*, *SW2* et *SW3*) sur deux gènes distincts (*PAX3* et *MITF*) (Hauswirth *et al.*, 2012).

L'allèle *PAX3*^{C70Y}, ou *SW2*, est une mutation faux-sens sur le gène *PAX3* (chromosome 6) par substitution d'un C par un T. Cet allèle est le plus récent et est apparu en 1987. Il n'existe que chez les chevaux de race Quarter Horse et American Paint Horse (Photos 59). La mutation entraîne le remplacement d'une cystéine hautement conservée qui participe à la liaison de l'ADN au facteur de transcription *PAX3*. Chez la Souris, *PAX3* est un gène indispensable à différentes étapes clés du développement neural, et par analogie, l'homozygotie pour la mutation entraînerait certainement de la létalité embryonnaire ou fœtale chez le cheval. Ainsi il n'existe pas à ce jour de cheval homozygote pour cette mutation. Il est également recommandé de ne pas faire reproduire ensemble deux chevaux porteurs de cet allèle (Hauswirth *et al.*, 2012).

Photos 59 A, B et C : Chevaux de phénotype *splashed white* hétérozygotes pour l'allèle *SW2 (PAX3^{C70Y})*.

Le cheval de la photo A diffère peu d'un cheval sans pattern mais ses yeux bleus et sa liste large sont indicateurs de la présence de l'allèle *splashed white* (source : Hauswirth *et al.*, 2012).



Les autres mutations concernent le gène *MITF* qui est situé sur le chromosome 16.

L'allèle *MITF^{prom1}* aussi noté *SW1* est dû à une mutation non-sens par substitution d'un T par 11 nucléotides dans le promoteur spécifique des mélanocytes du gène *MITF*. Cette mutation interrompt un site de liaison hautement conservé pour PAX3. Il est à noter que cette mutation est localisée très près d'une mutation responsable de dépigmentation chez le chien (Hauswirth *et al.*, 2012). Cette mutation est commune et très répandue dans les différentes races de chevaux, elle est donc probablement apparue il y a plusieurs centaines d'année, avant la constitution des races modernes (Photo 60) (Hauswirth *et al.*, 2012)..

**Photo 60 : Cheval au phénotype *splashed white* hétérozygote pour l'allèle *SW1 (MITF^{prom1})*
(Source : Hauswirth *et al.*, 2012)**



L'homozygotie pour *SW1* entraîne une dépigmentation beaucoup plus prononcée mais variable : au minimum le ventre, les membres et la tête sont blancs. Dans les cas extrêmes il peut seulement subsister une zone pigmentée de part et d'autre de la ligne dorsale (Photos 61) (Hauswirth *et al.*, 2012).

Photos 61 A, B et C : Chevaux homozygotes pour l'allèle *SW1* (*MITF^{prom1}*).

La dépigmentation est beaucoup plus marquée et peut même couvrir la majeure partie de la robe. (Source : Hauswirth *et al.*, 2012)



La présence d'une seule copie de l'allèle *SW1* (Photos 59) ou *SW2* (Photo 60) conduit à un phénotype similaire tandis que la présence concomitante d'une copie des allèles *SW1* et *SW2* (Photos 62) est à l'origine d'une dépigmentation légèrement plus étendue (Hauswirth *et al.*, 2012).

Photos 62 : L'hétérozygotie composite *SW1 SW2* conduit à une dépigmentation sensiblement plus étendue.

(Source : Hauswirth *et al.*, 2012)



L'homozygotie pour *SW1* associée à la présence d'un allèle *SW2* peut conduire à un phénotype totalement blanc et un cheval sourd (Photo 63) (Hauswirth *et al.*, 2012).

Photo 63 : L'homozygotie pour *SW1* associée à une copie de l'allèle *SW2* est à l'origine d'une robe entièrement blanche et à de la surdité.

(Source : Hauswirth *et al.*, 2012)



Le troisième allèle est dû un faux sens causé par une délétion dans l'exon 5 du gène *MITF*. Elle entraîne la formation d'une protéine MIFT tronquée sur près 50% de sa longueur, la rendant non fonctionnelle. Cet allèle est noté *MITF*^{C280Sfs*20} ou SW3 et il est dominant. C'est un allèle extrêmement rare, et il est suspecté que sa présence à l'état homozygote entraîne des conséquences cliniques sévères telle une microphthalmie, par analogie avec des données chez la Souris. Il est donc recommandé de ne pas faire reproduire deux chevaux porteurs de cet allèle (Photo 64) (Hauswirth *et al.*, 2012).

Photo 64 : Phénotype *splashed white* chez un cheval hétérozygote pour l'allèle SW3 (*MITF*^{C280Sfs*20}).

(Source : Hauswirth *et al.*, 2012)



Un cheval hétérozygote composite SW2/SW3 est entièrement blanc (Photo 65) (Hauswirth *et al.*, 2012).

Photo 65 : L'hétérozygotie composite SW2/SW3 conduit à un cheval de robe totalement blanche.

(Source : Hauswirth *et al.*, 2012)



Le Tableau 7 résume les phénotypes obtenus selon les combinaisons alléliques.

Tableau 7 : Bilan de la variabilité du phénotype splashed-white en fonction du génotype

GENOTYPE	PHENOTYPE
<i>SW1sw1⁺ ; sw2⁺sw2⁺</i> <i>sw1⁺sw1⁺ ; SW2sw2⁺</i> <i>SW3sw3⁺ ; sw2⁺sw2</i>	<i>Splashed white</i>
<i>SW1sw1⁺ ; SW2sw2⁺</i>	<i>Splashed white</i> sensiblement plus étendu
<i>SW1SW1 ; sw2⁺sw2⁺</i>	<i>Splashed white</i> très large (minimum ventre + tête + membres blancs)
<i>__ ; SW2/SW2</i> <i>__ ; SW3/SW3</i>	Non viable
<i>SW1SW1 ; SW2sw2⁺</i> <i>SW1SW3 ; __</i>	Blanc

Il n'y a pas de preuve concrète de causalité entre ces mutations et les phénotypes *splashed-white*, cependant les arguments en faveur de l'existence de celle-ci sont nombreux et forts (Hauswirth *et al.*, 2012).

Une autre mutation sur *PAX3* a été découverte chez des chevaux de race Appaloosa présentant par conséquent un pattern complexe léopard mais également des yeux partiellement bleus et une liste très large (Photo 66). Il s'agit d'une mutation faux-sens causée par une substitution d'un C par un G sur l'exon 2 de *PAX3*, à l'origine d'une substitution d'une proline hautement conservée par une arginine. Cette mutation est nommée *PAX3:p.Pro32Arg* et notée *PAX3:P32R*. Il n'y a cependant aucune preuve formelle du lien de causalité et des études sur la descendance sont à mener ultérieurement pour confirmer cette découverte encore préliminaire (Hauswirth *et al.*, 2013).

Photo 66 : Cheval de race Appaloosa présentant un pattern complexe léopard potentiellement associé à un nouveau pattern *splashed white* à l'origine de cette liste large et des yeux partiellement bleus. Les chevaux issus de la même famille portent cette même liste et l'allèle *PAX3:P32R*.

(Source : Hauswirth *et al.*, 2013)



La découverte de ces nouveaux allèles rend encore plus complexe les phénotypes à patterns de dépigmentation, en effet leurs variations sont larges et ils peuvent recouper phénotypiquement

les marquages blancs, très communs, de la tête et des membres de nombreux chevaux (Hauswirth *et al.*, 2012).

Ces nouvelles mutations interagissent également avec d'autres facteurs génétiques. Ainsi les chevaux alezans portant une mutation sur *MITF* ou *PAX3* présentent un phénotype dépigmenté plus prononcé que des chevaux bais avec la même mutation (Hauswirth *et al.*, 2012).

Ces mutations sont proches de mutations existant chez l'Homme et responsables des syndromes de Waardenburg et Tietz (Hauswirth *et al.*, 2012).

Deux autres mutations portant sur le gène *MITF* ont été découvertes et sont responsables de phénotypes de dépigmentation différents. Cependant, en raison de leur localisation sur le gène *MITF*, il paraît plus judicieux de les classer avec le phénotype *splashed-white*. Il s'agit des allèles *macchiato* et *MITF*^{244Glu}.

Un poulain mâle de race Franches-Montagnes né en 2008 de deux parents de robe baie présentait une robe qui est une combinaison d'un pattern de dépigmentation et d'une dilution de robe (Photo 67) (Hauswirth *et al.*, 2012).

Photo 67 : Robe macchiato chez un étalon Franches-Montagnes. Il présente à la fois une dépigmentation de type *splashed white* et une dilution de la robe de base baie.

(Source : Hauswirth *et al.*, 2012)



L'analyse ADN a permis de confirmer que ce poulain n'était pas un individu mosaïque et d'identifier une mutation *de novo* (*MITF*^{N310S}) : une mutation faux-sens dans l'exon 6 du gène *MITF* causée par la substitution d'un A par un G. Cette mutation affecte un acide aminé hautement conservé du motif de liaison à l'ADN du facteur de transcription *MITF*, réduisant de 80% l'activité de liaison à l'ADN. La robe résultant de cette mutation a été nommée *macchiato*, et ce cheval en est l'unique porteur. Cet étalon s'est révélé être atteint de surdité et présenter une motilité spermatique très réduite le rendant infertile (Hauswirth *et al.*, 2012). C'est donc une mutation qui disparaîtra avec le cheval.

Un poulain entièrement blanc avec les yeux bleus de race American Standardbred est né de deux parents bais. Les iris étaient bleus et avec une bordure irrégulière. Un séquençage a permis

d'identifier une mutation faux-sens dans l'exon 9 du gène *MITF* correspondant à la substitution d'un G par un A. L'acide aminé alors substitué est localisé dans un domaine structural essentiel à la fonction de la protéine MITF. Il s'agit d'une mutation *de novo*, bien absente chez les deux parents. Cet allèle a été nommé *MITF*^{244Glu} et était présent à l'état hétérozygote chez le poulain (Nicole Dürig *et al.*, 2017).

Photo 68 : Robe totalement blanche chez un poulain issu de deux parents bais. Le poulain est hétérozygote pour une mutation de novo du gène *MITF* (*MITF*^{244Glu}), dont il est le premier et seul porteur actuellement.

(Source : Nicole Dürig *et al.*, 2017)



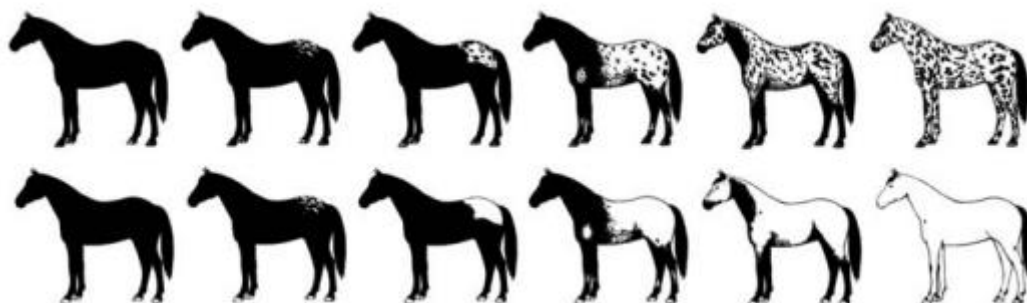
F. Locus Léopard (gène *TRPM1*)

Le complexe léopard est un terme donné par Sponenberg pour désigner l'ensemble des patterns tachetés/mouchetés symétriques autour des hanches.

On identifie trois composants principaux du complexe léopard : (i) un pattern blanc, présent dès la naissance (qui n'est pas toujours identifié lorsqu'il est très réduit), (ii) un pattern rouan indépendant et différent du *classic roan* causé par le locus Rouan, il est appelé *roaning* ou *varnish roan* et ne concerne que des zones pigmentées excepté les spots, (iii) et enfin un pattern de taches ovales appelé *leopard spots*. L'intensité de ces trois composants est variable et résulte en ce qu'on appelle continuum du complexe léopard (Figure 10) : de quelques taches blanches à une robe complètement blanche (Sponenberg et Bellone, 2017).

Figure 10 : Illustration du continuum du complexe léopard.

(Source : Sponenberg et Bellone, 2017)



De nombreuses dénominations anglophones existent pour décrire certains aspects du continuum, mais peu d'entre elles ont un équivalent français (entre parenthèses) : *mottled*, *frost*, *snowflake*, *varnish roan* (Photo 71), *speckled*, *snow cap/blanket* (capé), *spotted blanket* (capé taché, Photo 69), *near leopard*, *leopard* (léopard, Photo 70), et *few spot leopard*.

Photo 69 : Robe capée tachée (*spotted blanket*) chez un hongre ONC de 4 ans.

(Source : photo personnelle.)



Photo 70 : Ce hongre Knabstrup porte une robe bai léopard.

(Source : <https://www.deviantart.com/trottergirl/art/Bipo-13-474091861>)



Le pattern Léopard est rencontré chez les chevaux de race Appaloosa, Miniature, Noriker, Knabstrup ... Il est également associé à plusieurs caractéristiques : une sclère blanche bien visible qui donne un effet cerclé à l'œil, des sabots striés, une peau mouchetée sur le bout du nez, autour des yeux et sur les zones uro-génitales, un « *varnish roaning* » (Photo 71) qui désigne l'apparition progressive de nombreux poils blancs sur l'ensemble du corps sauf les reliefs osseux comme la tête, les membres et les hanches (Photos 72 A à E) (Bellone *et al.*, 2013). Ce pattern est également souvent associé à des crins fins et peu abondants.

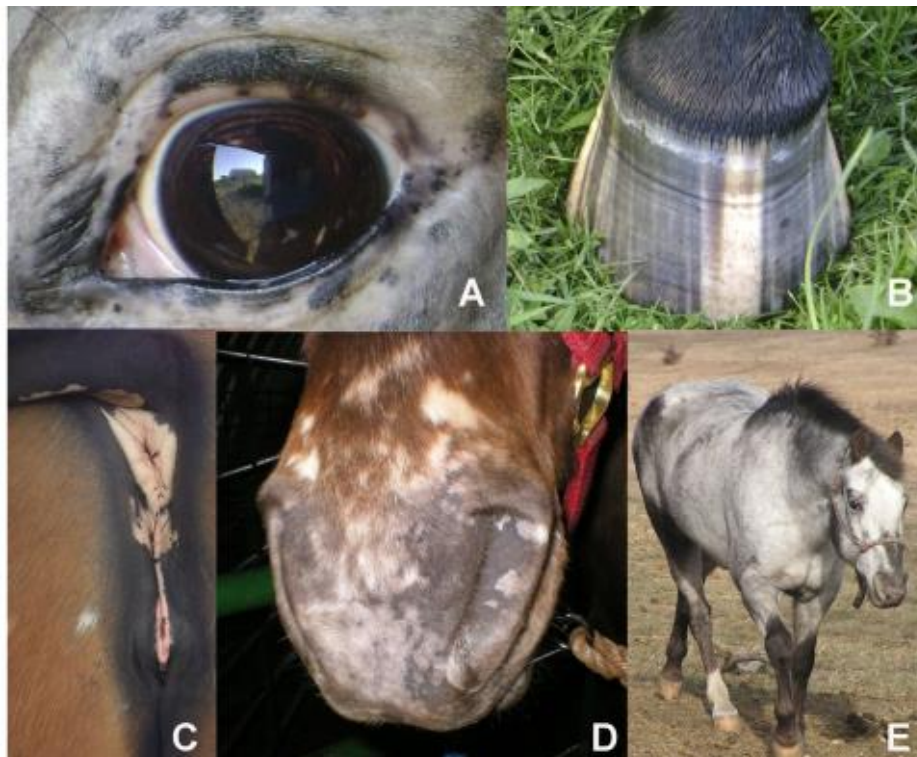
Photo 71 : Le varnish roaning est très visible chez cet Appaloosa *varnish roan* : les zones épargnées par les poils blancs sont celles proches du contact osseux (la tête, les membres, la pointe de la hanche ...).

(Source : <https://www.deviantart.com/peachesrox/art/Appaloosa-Stock-008-179818345>)



Photos 72 A à E : Les caractéristiques associées au pattern Léopard sont la sclère blanche (A), les sabots striés (B), la peau mouchetée en zone uro-génitale (C), sur bout du nez (D) et autour des yeux (A), le *varnish roaning* (E).

(Source : Bellone et al., 2013)



Le complexe léopard existe depuis le Pléistocène, avant la domestication du cheval, ce qui en fait un des allèles les plus anciens. Sa fréquence était grandissante chez les premiers chevaux

domestiques (Âge de Cuivre et Âge de Bronze) tandis qu'il est devenu de plus en plus rare au Moyen-Âge (Wutke *et al.*, 2016).

Le pattern est majoritairement déterminé par le locus *LP* (pour *leopard*). L'allèle *LP* est incomplètement dominant et est responsable de la panachure, tandis que *lp* est l'allèle sauvage. Ainsi un cheval hétérozygote *LPlp* présentera de nombreux spots pigmentés sur un fond de robe plus ou moins blanc, tandis qu'un cheval homozygote *LPLP* ne présentera peu ou pas de spots sur une robe presque totalement blanche (Sponenberg et Bellone, 2017).

Le locus *LP* a été identifié sur le chromosome 1, et le gène *Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily M Member 1 (TRPM1)* a été retenu parmi plusieurs candidats. La protéine dont il est à l'origine, aussi appelée Melastatin 1 (MLSN1), est un canal calcique impliqué dans de nombreuses voies de signalisation intracellulaires (Bellone *et al.*, 2008). La mutation responsable du phénotype Léopard est une insertion de 1378 paires de bases dans l'intron 1, correspondant à un LTR (*long terminal repeat*) issu d'une insertion rétrovirale datant d'au moins 17 000 ans. Cette insertion est responsable d'une poly-adénylation précoce qui perturbe la transcription du gène. Il a été démontré que cette mutation est associée à la fois au pattern léopard et à la cécité nocturne congénitale non évolutive ou *Congenital Stationary Night blindness (CSNB)* en anglais (Bellone *et al.*, 2013).

Chez la Souris et l'Homme, la région promotrice du gène *TRPM1* contient 4 sites de liaison pour *MITF*, et le gène *TRPM1* est inhibé dans les cellules de mélanomes hautement métastatiques, ce qui suggère un rôle important dans la mélanogénèse. Le rôle spécifique de *TRPM1* dans les mélanocytes reste obscur, mais potentiellement, *TRPM1* interagirait avec la voie de signalisation de *KIT*, cruciale pour la croissance, la survie et la migration des précurseurs des mélanocytes.

Les mécanismes moléculaires à l'origine du pattern ne sont pas encore élucidés. Deux constats et hypothèses indépendants ont été réalisés, à des échelles différentes.

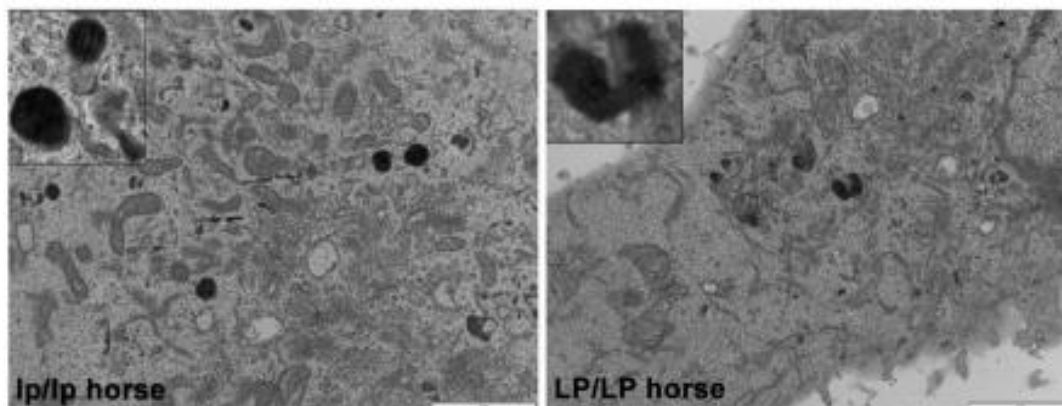
A l'échelle moléculaire, une hypothèse avancée est que l'altération du gène *TRPM1* engendrerait une mortalité précoce des mélanocytes. En effet l'absence d'expression de *TRPM1* conduirait à une déplétion de la population de cellules souches de mélanocytes par apoptose induite (aussi appelée *activation enhanced cell death* » (AECD), causée par la stimulation de *KIT* par son ligand alors que l'influx de Ca^{2+} est bloqué (Bellone *et al.*, 2008)) ou à une inhibition de la production de pigment par action sur d'autres gènes de la mélanogénèse (Bellone *et al.*, 2013). L'analyse de biopsies de peau a bien révélé des différences significatives d'expression de *TRPM1* entre la peau de chevaux *LPLP* et de chevaux *lp lp* ; cependant, la comparaison avec des biopsies de chevaux *LP lp* et *lp lp* n'est pas significative alors qu'on aurait pu s'attendre à un niveau intermédiaire d'expression du gène *TRPM1*. Mais il est possible que le moment de réalisation des biopsies ait été mal choisi d'un point de vue biologique : l'existence d'éléments régulateurs transitoires augmentant l'expression du gène dans les mélanocytes précurseurs en migration par rapport aux mélanocytes matures est envisageable (Bellone *et al.*, 2008).

D'autre part, à l'échelle cellulaire, des cultures de peau pigmentée de chevaux *LPLP* ont révélé que les mélanocytes présentent des mélanosomes de forme irrégulière (Photos 73), suggérant une perturbation de la maturation des mélanosomes (Bellone *et al.*, 2013). L'hypothèse avancée est que la morphologie altérée des mélanosomes des chevaux homozygotes ou hétérozygotes pour *LP* aboutit à la mort des mélanocytes. Ainsi ces chevaux présentent des zones dépigmentées dès la naissance et un *roaning* progressif au cours de leur vie. Cependant, il est difficile d'avancer une hypothèse pour justifier l'existence des taches pigmentées au sein des zones non pigmentées. En

effet des cultures de mélanocytes réalisées sur des chevaux *LPLP* et *LPlp* à partir de biopsie de peau pigmentée et non pigmentée révèlent que les zones de pattern blanc sont dépourvues de mélanocytes. Les taches pigmentées dans ces zones ne correspondent pas à des réversions somatiques avec perte de la mutation *LP* car l'analyse ADN de ces taches confirme la présence de la mutation (Bellone *et al.*, 2013).

Photos 73 : Ultrastructure de mélanocytes de chevaux *lp/lp* et *LPLP* observée au microscope électronique (échelle : 2 µm). Les mélanosomes du cheval *LPLP* présentent une morphologie anormale.

(Source : Bellone *et al.*, 2013)



En parallèle du locus *LP*, il existe des locus modificateurs responsables de variations considérables de l'étendue du pattern complexe léopard. Cependant, il faut garder en mémoire que seul le locus *LP* définit l'existence ou non du pattern. L'expression des locus modificateurs n'est donc visible qu'en présence d'au moins un allèle *LP*.

Le plus important des locus modificateurs est *PATN1*, pour *pattern1*. L'allèle *PATN1* est dominant sur l'allèle *patn1* et a pour effet d'augmenter considérablement la surface blanche des patterns léopards mais il ne s'exprime phénotypiquement que sur des chevaux porteurs d'au moins un allèle *LP*. Par ailleurs, il n'a pas été détecté parmi 9 races non porteuses de l'allèle *LP*. *PATN1* est fortement lié à *MC1R*, ce qui a permis d'établir sa localisation au chromosome 3. Le pattern Léopard couvre plus de 60% de la robe de base chez cheval hétérozygote pour *PATN1*, contre moins de 40% chez un cheval non porteur (Holl *et al.*, 2016). L'analyse phénotypique et génotypique réalisée chez des chevaux de race Noriker grâce à des images binarisées par informatique (Druml *et al.*, 2017) a obtenu des résultats semblables mais plus nuancés : 10% des porteurs de *PATN1* présentent moins de 40% de pattern contre seulement 5% dans l'étude de (Holl *et al.*, 2016). Une explication plausible est la méthode d'étude : la détermination du pourcentage est subjective dans la première étude (Holl *et al.*, 2016) tandis qu'elle est objective (traitement informatique) dans la seconde (Druml *et al.*, 2017).

Photos 74 : Influence du locus modificateur *PATN1* sur le pattern Léopard. *PATN1* est dominant et ne s'exprime qu'en présence d'un allèle *LP*, dont il augmente l'expression et l'étendue de la dépigmentation.

(Source : Holl *et al.*, 2016)



A l'heure actuelle, on attribue l'allèle *PATN1* à un SNP (un G au lieu d'un T) situé à l'extrémité 3' du gène *RING finger and WD repeat domains 3 (RFWD3)*. *RFWD3* code pour une ligase ubiquitine 3 qui est impliquée dans la réponse aux dommages de l'ADN (Holl *et al.*, 2016).

Plus simplement, l'hypothèse retenue est que le gène *RFWD3* est impliqué directement ou indirectement dans la destruction des mélanosomes anormaux (qui sont à l'origine de l'apparition de plages dépigmentées du complexe léopard), et qu'ainsi l'altération de son expression conduirait à une mort plus précoce des mélanocytes et donc à une dépigmentation plus extensive (Holl *et al.*, 2016).

La corrélation entre la présence du phénotype *PATN1* et la présence du SNP est très forte, cependant elle n'est pas parfaite : quelques individus ne montrent pas de pattern blanc extensif malgré la présence du SNP. Il y a alors deux possibilités : soit le SNP sur *RFWD3* est bien la

mutation causale et l'absence d'association parfait s'explique par l'interaction d'autres facteurs modificateurs, soit le SNP est seulement un marqueur très proche de la véritable mutation causale, qui n'aurait pas été identifiée. Dans les deux cas, le SNP sur *RFWD3* reste un bon marqueur pour tester la présence de l'allèle *PATN1* chez les chevaux léopards (Holl *et al.*, 2016).

Un autre locus modificateur du complexe Léopard est le pattern sabino. En effet, la présence du pattern sabino modifie entraîne généralement moins de taches et de taille moins grande (Photo 75) (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photo 75 : La présence du complexe léopard est peu évidente chez cette jument Gypsy Cob qui présente également un pattern sabino. Celui-ci réduit la taille et le nombre de taches induites par le complexe léopard.

(Source : Sponenberg et Bellone, 2017)



L'étendue et le type du pattern sont aussi associés à la robe de base (Figure 11) : le pattern léopard est plus étendu sur une robe de base alezan avec peu de spots, tandis que les robes de base baie sont les plus pigmentées. La robe noire est le plus souvent associée avec le pattern léopard de type « *classic leopard* » (Druml *et al.*, 2017). Les mécanismes génétiques sous-jacents ne sont pas élucidés, mais une autre étude portant sur le marquage (balzanes, listes, en-tête) (Rieder *et al.*, 2008) a révélé des conclusions similaires : la robe de base alezane est associée à la présence de plus poils blancs.

Figure 11 : Images modélisées représentatives du pourcentage de poils blancs en fonction de la robe de base, à partir d'une normalisation et binarisation de données chez des chevaux de race Noriker.

Le pattern léopard est généralement plus étendu avec peu de spots sur les chevaux de base alezane, au contraire les chevaux de base baie restent très pigmentés. Les chevaux de base noire présentent le plus souvent un pattern léopard de type « *classic leopard* » (source : Druml *et al.*, 2017).



Enfin, un autre facteur de variation du pattern est l'âge, comme évoqué plus haut avec le phénomène du « *varnish roaning* ». Ainsi les jeunes chevaux sont souvent plus pigmentés que les chevaux plus âgés (Druml *et al.*, 2017).

Le locus Léopard est directement responsable de cécité nocturne non évolutive congénitale, ou *congenital stationary night blindness* en anglais (CSNB) ; cette affection est développée dans la partie III.7.

G. Autres ajouts de poils blancs

Le rabicano, ou *white ticking* désigne l'ajout de poils et/ou de quelques crins blancs sur la base de la queue (Photo 76) et sur les flancs (Photo 77). Son extension est variable, mais rarement suffisante pour être confondue avec le pattern rouan. Cette adjonction existe dans la plupart des races mais le support génétique reste encore inconnu (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photo 76 : *White ticking* chez un poney Français de Selle : quelques crins à la base de la queue sont blancs ; il présente également quelques poils blancs sur les flancs.

(Source : photo personnelle)



Photo 77 : Pur-Sang arabe bai rabicano (ou *white ticking*) ; ses flancs sont parsemés de poils blancs et la base de sa queue est blanche.

(Source : Sponenberg et Bellone, 2017)



Les *birdcatcher spots* sont des petites taches rondes et blanches disséminées sur le corps, qui constituent un pattern rare (Photo 78). Le nombre de taches est en général stable avec le temps. Ce pattern est retrouvé dans de nombreuses races, mais les mécanismes génétiques à l'origine n'ont pas été étudiés (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photo 78 : Le pattern *birdcatchers spots* consiste en de multiples petites taches blanches et rondes disséminées sur le corps du cheval. Il ne s'agit pas du complexe léopard ni de vitiligo.

(Source : Sponenberg et Bellone, 2017)



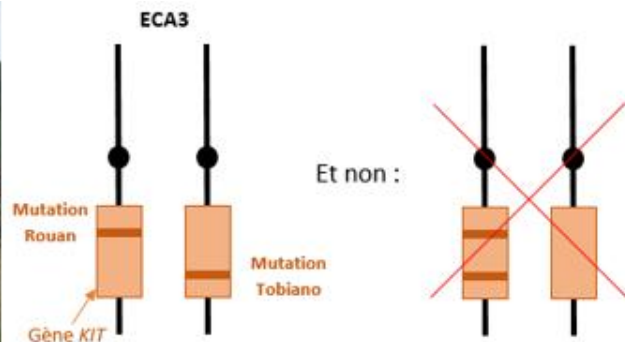
H. Bilan sur le déterminisme génétique de l'ajout de poils blanc dans la robe

Les patterns de dépigmentation sont phénotypiquement proches voire se recoupent, ils s'additionnent et leur expression peut entrer en interaction. Il est parfois très difficile de les identifier et de les différencier avec certitude par simple observation, notamment pour certains phénotypes complexes comme le *dominant white*, le sabino et le *splashed white*.

Par ailleurs, les patterns Rouan, Sabino, *Dominant white* et Tobiano sont causés par des mutations du même gène : *KIT*. Ainsi, elles ne peuvent pas être présentes sur la même copie du gène. Un cheval porteur de deux de ces patterns à la fois est donc forcément hétérozygote (Figure 12).

Figure 12 : (A) Cheval bai granité tobiano. (B) Il est nécessairement hétérozygote $Rnrn^+$; $Toto^+$ puisque ce sont deux allèles du gène *KIT*.

(Source : (A) <https://www.deviantart.com/reasontobecrazy/art/STOCK-Dark-Red-Roan-Tobiano2-252626723> ; (B) composition personnelle)



4. Adjonctions

Les différents gènes présentés jusqu'ici, combinés, expliquent une grande partie des robes mais pas toutes. D'autres caractéristiques telles que pangaré (*mealy*) (plutôt monogénique et dominant), *shade*, charbonné (*sooty*), pommelé (*dappled*), crins lavés (*flaxen*), bringé (*brindle*), *bend or spot etc.*, sont soit régies par des gènes encore inconnus, soit d'origine polygénique.

Le pangaré, ou *mealy*, est à l'origine d'une teinte plus pâles ou plus jaune autour des yeux, sur le bout du nez, sous le ventre, sur les flancs, derrière les coudes et en face médiale des membres. Le pangaré est répandu parmi de nombreuses races, mais est caractéristique de la race Exmoor (Photo 79) (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photo 79 : Ce poney Exmoor présente une robe bai pangaré (*mealy bay*) : les zones ventrales, le tour des yeux et le bout du nez sont très clairs.

(Source : <https://www.deviantart.com/xrockinro<bynstock/art/Exmoor-Pony-20-167253866>)



Shade est une adjonction qui contrôle la teinte de la robe de base : ainsi par exemple, un cheval un bai sera plus ou moins « rouge » (bai cerise en français, en anglais il existe plus de sous-types : *blood bay*, *cherry bay*) ou « jaune » (*sandy bay*, *honey bay*, *golden bay* ...) (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photo 80 : Selle Français bai cerise. La nuance de robe est très rougeâtre par rapport au poney de selle français bai de la photo 4.

(Source : photo personnelle)



Le charbonné (*sooty* en anglais) modifie la robe de base en y ajoutant des poils noirs, en particulier sur le dos, les épaules et la croupe. Son expression est très variable (Sponenberg et Bellone, 2017) (Photo 81). Dans la nouvelle nomenclature de l'IFCE, *shade* est traité comme un mélange de poils.

Les pommelures (*dapples*) sont très fréquentes et peuvent survenir sur n'importe quelle robe. Il s'agit d'une multitude de zones arrondies plus claires au centre qu'en périphérie sur le corps. Quelques fois, au contraire ces zones sont plus foncées que la robe de fond ; on parle alors de pommelures inversées (Photo 81) (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photo 81 : Cet étalon présente une robe isabelle charbonné et pommelée (*sooty buckskin*),

(Source : <https://www.deviantart.com/xrockinrobynstock/art/Danaway-Flashjack-9-138732638>)



On parle de crins lavés (*flaxen*) chez les chevaux alezans possédant des crins très clairs (Photos 82). Il ne s'agit donc pas de chevaux silver. Cette caractéristique serait régie par un locus appelé *flaxen*, encore inconnu. Les crins lavés sont une caractéristique de la race Haflinger (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photos 82 : Ce cheval de selle (à gauche) et ces deux juments Haflinger (à droite) sont alezans crins lavés.

(Source : photos personnelles)

Les crins sont plus clairs que les poils sans que le cheval ne soit silver. Le locus responsable est encore inconnu mais appelé « *flaxen* » (Source : photos personnelles).



Un cheval bringé (*brindle* en anglais) présente un pattern de rayures verticales, sur n'importe quelle robe (Photos 83). Le support génétique de cette adjonction est difficile à étudier en raison de la rareté de ces chevaux. Cependant, on distingue trois mécanismes à l'origine de ce pattern, dont le phénotype est indifférenciable (Sponenberg et Bellone, 2017).

Photos 83 : Chevaux bringés. Ce pattern peut survenir sur n'importe quelle robe et est composé de rayures verticales.

(Source : Sponenberg et Bellone, 2017)



Le premier mécanisme est très rare. Le pattern bringé serait causé par un trouble cutané congénital lié à une mutation dominante sur le chromosome X, n'affectant que les femelles car létal in utero pour les mâles (Sponenberg et Bellone, 2017).

Une autre cause de ce pattern est la présence de l'allèle dominant *brindle-1* (*BR1*) lié à X (sans trouble cutané associé). La mutation à l'origine de cet allèle serait une unique substitution dans le gène *membrane bound transcription factor peptidase site 2* (*MTFPS2*). Au gré d'inactivations aléatoires de X chez certaines femelles, les mélanocytes qui contiennent le X avec l'allèle non muté produisent la robe de fond « normale » tandis que les mélanocytes dont l'autre X est activé sont responsables des rayures. Ce mécanisme concerne à nouveau uniquement les femelles bringées (Sponenberg et Bellone, 2017).

Enfin, le pattern bringé peut s'expliquer par le chimérisme : la fusion de deux embryons de robe différente in utero. Les chimères ne peuvent pas transmettre le pattern bringé (Sponenberg et Bellone, 2017).

Le *Bend or spot* désigne la présence de taches foncées aléatoires plus ou moins nombreuses sur les chevaux de robe alezan très rarement d'autre robe, et chez presque toutes les races (Photo 84).

Photo 84 : Selle Français alezan présentant du *Bend or spot*.

(Source : photo personnelle)



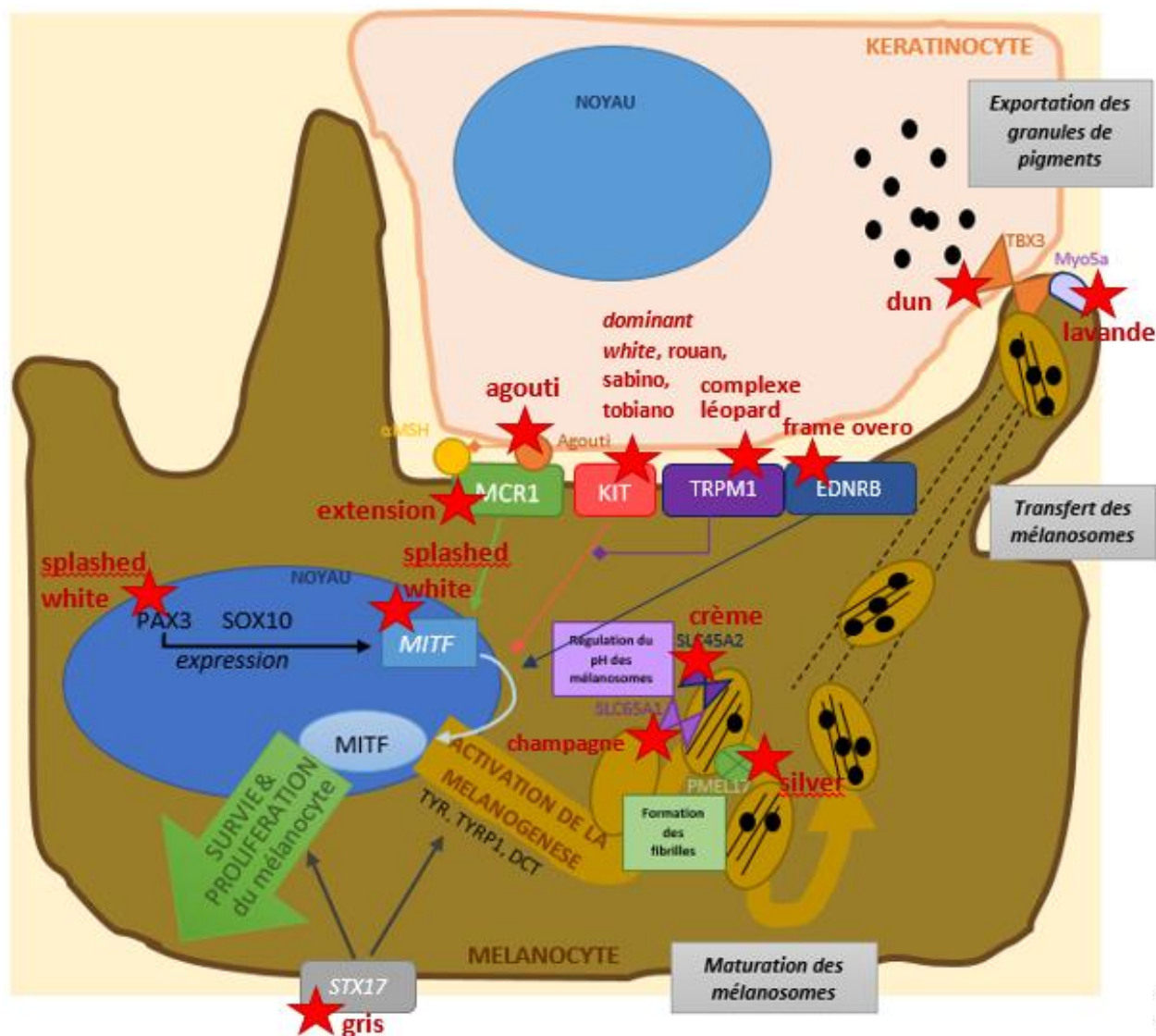
Les marques primitives, décrites dans le paragraphe traitant de la dilution *Dun*, sont considérées comme des adjonctions dans la nomenclature de l'IFCE. En effet, certains chevaux ne portant pas la dilution *Dun* peuvent cependant présenter des marques primitives (les chevaux porteurs de *non-dun1*

De très nombreuses autres adjonctions existent mais ne sont pas décrites ici, elles sont peu courantes et les gènes qui les régissent sont encore inconnus.

5. Bilan

La production et le transport de mélanine dans un mélanocyte sont des mécanismes complexes, faisant intervenir un grand nombre de gènes (*voir Première partie*). Les mutations de ces gènes entraînent des variations phénotypiques. Les gènes et protéines décrits dans cette Deuxième partie sont replacés sur le schéma bilan des voies de la mélanogénèse et de transport des mélanosomes (Figure 13).

Figure 13 : Vue d'ensemble de la mélanogénèse et des gènes mutés à l'origine de la variation de la pigmentation de la robe chez le cheval.
(Source : composition personnelle)



Mutation / phénotype



Mélanosome contenant des fibrilles et des granules de pigment



Granules de pigment



Microtubules

Troisième partie : les maladies associées aux couleurs de robe

Cette partie traite des maladies citées dans la partie précédente qui sont associées à certaines couleurs de robe.

1. Les anomalies congénitales oculaires multiples (MCOA) du cheval Silver

A. Mode de transmission et locus impliqué

En 1999, une première étude est menée sur l'association entre la robe *silver* et des anomalies oculaires fréquemment observée chez le Rocky Mountain Horse. Cette étude comprend plus de 500 chevaux de race Rocky Mountain Horse, dont l'examen ophtalmologique complet a révélé la présence très fréquente de mégalo-cornée, d'hypoplasie de l'iris, de myosis congénital et de kystes. Elle permet de déterminer deux types de chevaux atteints : les chevaux présentant un phénotype kystique et les chevaux présentant des anomalies oculaires multiples (dont des kystes). C'est ce qu'on appelle le syndrome MCOA (*Multiple Congenital Ocular Affections*) (Ramsey *et al.*, 1999).

L'association entre l'allèle *silver Z* et le syndrome MCOA a été mise en évidence par plusieurs études (Ramsey *et al.*, 1999 ; Ewart *et al.*, 2000 ; Grahn *et al.*, 2008 ; Ségard *et al.*, 2013), mais le mode de transmission de la maladie a été mal compris et controversé pendant plusieurs années. En 2000, le syndrome est étudié chez plus de 500 chevaux exclusivement de race Rocky Mountain Horse répartis dans différents états américains, en s'appuyant sur des pedigrees précis et des examens oculaires. La maladie semblerait alors suivre un modèle de transmission à expression codominante, avec un phénotype kystique chez les chevaux hétérozygotes et de multiples lésions oculaires chez les chevaux homozygotes. Le phénotype kystique semblerait être à pénétrance incomplète (60,35% pour Zz^+ , 99,86% pour ZZ , et proche de 0 pour z^+z^+) dans une des lignées. La pénétrance incomplète peut s'expliquer par des interactions épistatiques d'un gène modificateur sur le locus de la maladie (Ewart *et al.*, 2000).

Plus de 10 ans après, une autre étude corrobore cette théorie : tous les cas de phénotype kystique étaient hétérozygotes pour l'allèle *silver Z* tandis que tous les cas de phénotype MCOA étaient homozygote pour l'allèle *silver Z* (Ségard *et al.*, 2013). Cinq cas chez des poneys Shetland montraient les mêmes résultats (Komáromy *et al.*, 2011).

En 2013, une nouvelle étude a comparé les séquences ADN entre des chevaux de phénotype MCOA, des chevaux de phénotype kystique et des chevaux sains. Toutes les mutations qui ne correspondaient pas au mode de transmission codominant ont été exclues. Deux mutations candidates déjà identifiées comme à l'origine de la robe *silver* sont ressorties de cette analyse et c'est la mutation faux-sens qui a été retenue comme responsable à la fois du phénotype *silver* et du syndrome MCOA (Andersson *et al.*, 2013).

Il est à noter qu'une étude en revanche a exclu une transmission codominante (Grahn *et al.*, 2008). Ses auteurs privilégient l'hypothèse d'une pénétrance incomplète sur un caractère héréditaire dominant. L'étude comporte un biais : il a été supposé que les juments mères des lignées étudiées n'étaient pas porteuses de la mutation MCOA en raison de leur ascendance raciale, or la circulation

de l'allèle *silver Z* a été décrite quelques années plus tard dans certaines des races dont ces juments étaient issues. Par ailleurs, il est possible que tous les phénotypes kystiques n'aient pas été détectés, comme l'explique l'étude de (Ségard *et al.*, 2013).

Il est ainsi recommandé de ne pas croiser deux chevaux porteurs de l'allèle *silver Z*, afin d'éviter de produire des individus homozygotes *ZZ* qui ont un risque très élevé d'être atteints de ces anomalies oculaires.

B. Manifestations cliniques et histologiques

Le syndrome comprend donc deux phénotypes : le phénotype kystique, et le phénotype MCOA. Les deux phénotypes comportent des kystes, ce qui en fait l'anomalie oculaire la plus fréquente du syndrome (tous les chevaux porteurs de l'allèle *silver Z* sauf deux présentaient des kystes, (Ségard *et al.*, 2013)). Les kystes sont principalement localisés à l'uvée antérieure (corps ciliaire) en région temporale (Photo 85 et Photo 86) bien que chez un faible pourcentage de chevaux certains kystes sont en région nasale (Ramsey *et al.*, 1999 ; Ségard *et al.*, 2013). Des kystes en périphérie de la rétine sont également décrits (Ramsey *et al.*, 1999 ; Ségard *et al.*, 2013). L'échographie est plus sensible pour la détection des kystes et permet une bonne caractérisation de leur nombre, de leur taille et de leur localisation (Ségard *et al.*, 2013).

L'examen histologique révèle que les kystes du corps ciliaire sont composés d'épithélium ciliaire interne non pigmenté et de tissu rétinien sensitif primitif tandis que les kystes périphériques de la rétine sont composés d'épithélium rétinien pigmenté (Ramsey *et al.*, 1999). Les kystes sont plus nombreux chez les adultes que chez les poulains ce qui suggère une évolution du nombre de kystes avec l'âge (Ségard *et al.*, 2013), malgré une description non progressive de la maladie.

Photo 85 : Kystes ciliaires temporaux bilatéraux de grande taille chez une pouliche Rocky Mountain Horse.

(Source : Grahn *et al.*, 2008)

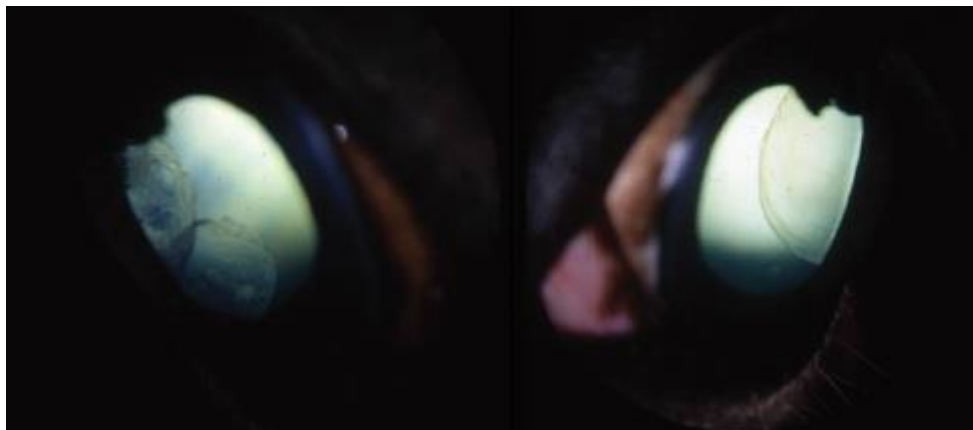


Photo 86 : Kyste ciliaire temporal visible dans l'ouverture de la pupille.

(Source : Ewart et al., 2000)

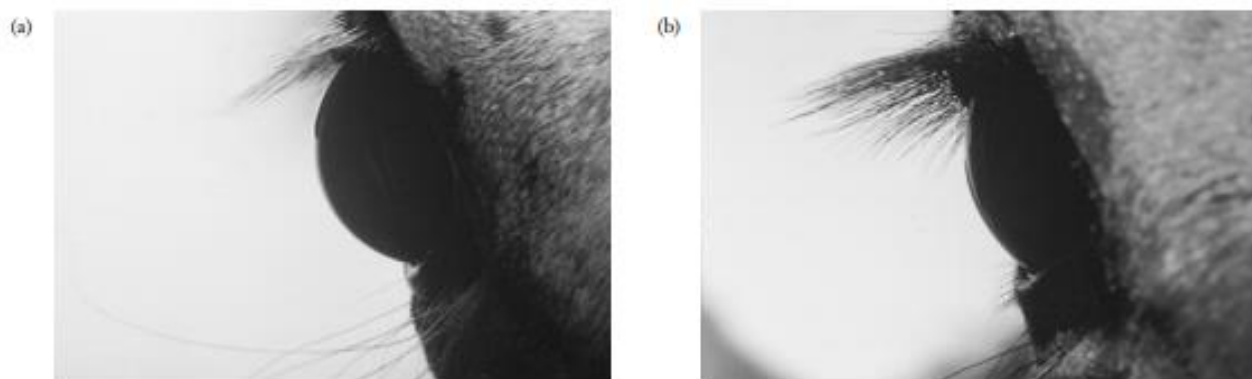


Le phénotype MCOA comporte, en plus des kystes, de multiples anomalies oculaires qui touchent les différentes structures de l'œil. Les anomalies sont variables selon les individus.

De nombreux chevaux présentent des anomalies de la cornée. On retrouve fréquemment la *cornea globosa* (Ramsey et al., 1999 ; Ségard et al., 2013) c'est à dire une cornée dont le rayon de la courbure est augmenté (tout en conservé un diamètre normal) ce qui conduit à une protrusion de l'œil. Il s'agit d'une malformation congénitale non progressive qui ne gêne pas la vision (Photos 87) (Gilger, 2016). D'autres auteurs décrivent plutôt de mégalo-cornée qui est une cornée dont le diamètre est augmenté en conservant une courbure normale (Ramsey et al., 1999). Il n'y a pas de signe de glaucome associé (Ramsey et al., 1999 ; Ségard et al., 2013). Les chevaux hétérozygotes pour l'allèle *silver Z* sont plus souvent myopes que les chevaux non porteurs du même âge, et les mâles et les femelles sont autant touchés (Johansson et al., 2017).

Photos 87 : Œil droit vu de profil d'un Rocky Mountain Horse présentant une *cornea globosa* (a) et d'un autre Rocky Mountain Horse sain d'âge comparables.

(Source : Ramsey et al., 1999)



Chez les chevaux porteurs de l'allèle *silver Z* la chambre antérieure est plus profonde et l'épaisseur de l'uvée antérieure (nasale et temporale) est plus réduite que chez les chevaux non porteurs, de même que chez les chevaux homozygotes pour l'allèle *silver (Z)* par rapport aux chevaux hétérozygotes (Ségard et al., 2013). Les auteurs attirent l'attention sur le fait qu'une expression légère de l'anomalie de profondeur de la cornée est possible chez les chevaux hétérozygotes pour l'allèle *silver (Z)*, mais que leur étude manquait de puissance statistique pour le montrer. Cette expression légère ne peut être détectée qu'au moyen de l'échographie (Ségard et al., 2013).

De nombreux chevaux porteurs de Z présentent une dysplasie de l'iris (Photo 88) (Ségard *et al.*, 2013). De la discorie, de l'hypoplasie stromale, des granules iriens aplatis et entourant la pupille peuvent notamment être associés. Un myosis congénital, ne répondant pas à l'atropine, peut également gêner l'examen ophtalmoscopique (Ramsey *et al.*, 1999).

Photo 88 : Hypoplasie de l'iris caractérisée par des strates, des granules iriens aplatis en circonférence et une discorie de la pupille.

(Source : Ewart *et al.*, 2000)



Une importante proportion de chevaux porteurs (43,8% des adultes porteurs et 47,4% des poulains porteurs) sont également atteints de cataracte. La cataracte est le plus souvent bilatérale immature et corticale antérieure chez les adultes, alors qu'elle a été décrite comme hypermature chez quelques poulains. A l'échographie, elles forment des foyers très étendus et peu échogènes dans le cortex ou bien des opacités périnucléaires linéaires ou sphériques. Cependant, ceci est en contradiction avec des observations antérieures qui rapportent peu de cataractes, survenant chez des chevaux qui étaient peu atteints d'anomalies oculaires. La cataracte ne serait alors probablement pas un élément du syndrome MCOA (Grahm *et al.*, 2008). Cependant ceux-ci n'ont pas écrit l'aspect de ces cataractes, ce qui réduit les possibilités d'interprétation de ces données.

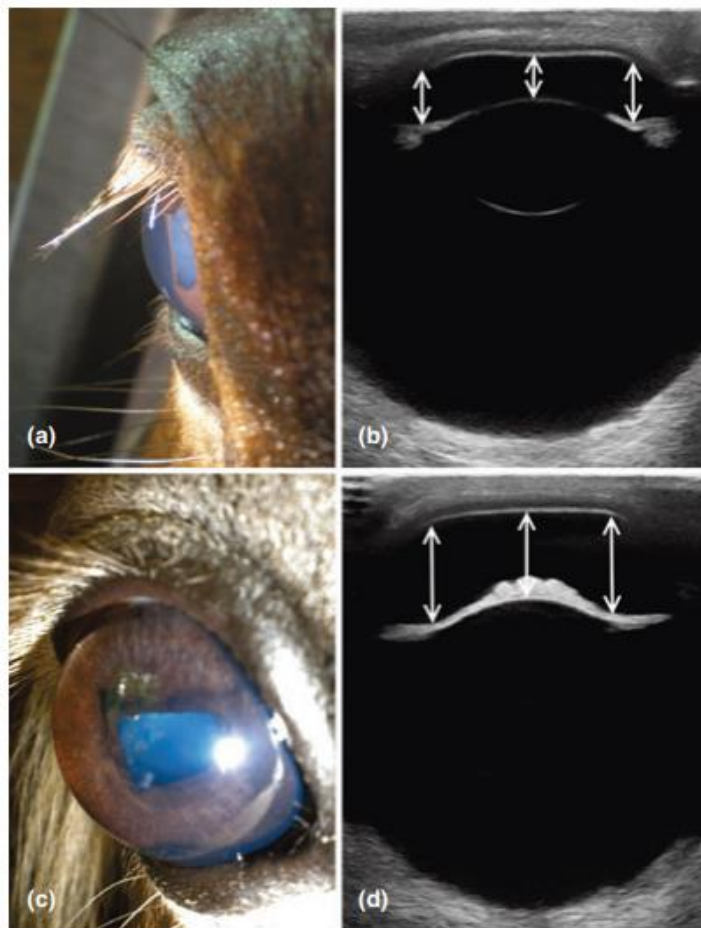
La présence de dysplasie de la rétine dans le syndrome MCOA est controversée (Ramsey *et al.*, 1999 ; Grahm *et al.*, 2008 ; Ségard *et al.*, 2013). Un décollement de rétine est possible et peut notamment se traduire par la présence de stries curvilignes sur la rétine à l'ophtalmoscopie directe (Ramsey *et al.*, 1999 ; Grahm *et al.*, 2008). L'échographie est l'examen complémentaire le plus sensible pour détecter les décollements de rétine dont l'aspect échographique prend la forme de petites élévations bulbaires de la rétine périphérique jusqu'à des membranes en entonnoirs seulement rattachées à la papille optique (Ségard *et al.*, 2013).

C. Diagnostic

L'échographie est un examen facile à réaliser, sous sédation légère si nécessaire, et est complémentaire à l'ophtalmoscopie directe. Elle rend possible l'examen des structures de l'uvée même lorsque le cheval présente un myosis congénital. Elle est plus sensible que l'ophtalmoscopie directe pour la détection des kystes de l'uvée et permet une meilleure caractérisation précise de leur nombre, de leur taille et de leur localisation. Elle offre également une appréciation de la profondeur de la chambre antérieure (Photo 89) et de l'épaisseur de l'iris et du corps ciliaire. En revanche l'ophtalmoscopie directe reste plus précise pour évaluer une dysplasie de l'iris, l'échographie ne permettant de diagnostiquer que des cas sévères (Ségard *et al.*, 2013).

Photo 89 : L'œil droit normal d'un Comtois (a) et son image échographique normale (b) comparé à l'œil droit d'un autre Comtois présentant une *cornea globosa* caractéristique (c) et l'image échographique associée qui révèle une augmentation de la profondeur de la chambre antérieure (d).

(Source : Ségard *et al.*, 2013)



Le silver est une robe recherchée chez certaines races, notamment chez le Rocky Mountain Horse. Au contraire d'autres races, dont le Comtois, essaient de se débarrasser de l'allèle silver afin d'éradiquer la MCOA au sein de ces races.

2. Le syndrome du poulain lavande

Le syndrome du poulain lavande (LFS : *Lavender Foal Syndrome* en anglais), aussi appelé la dilution létale de robe (CCDL : *Coat Color Dilution Lethale* en anglais), touche les nouveau-nés de race Pur-Sang Arabe de lignée Egyptienne. Ce syndrome est caractérisé par une atteinte neurologique de type syndrome tétanique et une robe diluée souvent de teinte lavande pâle, mais pouvant également être argentée, étain (gris ardoise pâle) ou alezan pâle (rose) (Photos 90) (Fanelli, 2005 ; Page *et al.*, 2006).

Photos 90 : Deux symptômes caractéristiques du LFS : le pelage pâle et l'opisthotonos.

(Sources : Brooks *et al.*, 2010 à gauche ; Page *et al.*, 2006 à droite)



Les poulains sont atteints dès la naissance et présentent des signes de pédalage et d'opisthotonos intermittents, parfois pris pour des crises d'épilepsie. Ils ne tolèrent pas le décubitus sternal, mais peuvent cependant conserver un bon réflexe de succion. Avec un traitement de support, les poulains peuvent survivre plusieurs heures à plusieurs jours, mais toutefois sans aucune amélioration ce qui les conduit en général à leur euthanasie (Fanelli, 2005 ; Page *et al.*, 2006).

Les signes neurologiques n'ont pas été mis en évidence *in utero*, et aucun éleveur n'a rapporté d'inconfort des juments ou d'activité anormale du poulain dans le dernier tiers de gestation, pas plus que de rupture de l'utérus (Fanelli, 2005).

Les auteurs sont en faveur d'une défaillance des motoneurones extenseurs plutôt que de crises convulsives partielles en raison d'un sensorium conservé et de l'absence de normalité entre les crises (Fanelli, 2005). Les examens post-mortem de 8 poulains atteints n'ont mis en évidence aucune lésion du système nerveux central (Fanelli, 2005 ; Page *et al.*, 2006).

Une étude de pedigree a montré que ce syndrome présente un mode de transmission autosomique récessif. Une analyse génétique pangénomique par étude d'association a montré que cette affection est causée par une mutation du gène *MYO5A*, pour laquelle tous les poulains affectés étaient homozygotes et les parents qui ont pu être testés étaient porteurs (Brooks *et al.*, 2010). De plus, le gène *MYO5A* est une région très conservée chez les mammifères, qui code pour des domaines de liaisons spécifiques de la queue de myosine 5A avec les vésicules sécrétoires (Pashkova *et al.*, 2005). L'épissage alternatif de la queue de la protéine MYO5A permet la reconnaissance de différents organites dans la cellule ; en particulier des mélanosomes et de certaines structures dans les neurones (Au et Huang, 2002). La mutation est une unique délétion dans l'exon 30, mais qui entraîne l'apparition prématurée d'un codon stop, résultant à la traduction d'une protéine MYO5A beaucoup plus courte de 379 acides aminés et une altération de la queue (Brooks *et al.*, 2010). La protéine MYO5A n'est alors plus capable de reconnaître d'une part les mélanosomes et donc d'assurer leur transport, d'où une robe diluée, et d'autre part les autres reconnaissances peuvent être altérées selon l'étendue de la mutation, d'où l'apparition de signes neurologiques.

A l'analyse histologique de divers organes, aucune lésion n'a été mise en évidence, à l'exception de grands amas de mélanine dans les follicules pileux (Fanelli, 2005).

La fréquence de la mutation est estimée à 10,3% chez les chevaux Pur-Sang Arabe de lignée Egyptienne et à 1,8% dans les autres lignées ; mais cette fréquence peut être autant surestimée que sous-estimée en raison de biais de sélection : d'une part les éleveurs pensant posséder des chevaux porteurs pouvaient être plus enclins à y participer afin de les détecter, mais d'autre part au contraire, ils pouvaient être réticents à y participer par peur que la confidentialité ne soit pas respectée en cas de détection de chevaux porteurs avec les conséquences économiques défavorables que cela engendrerait (Brooks *et al.*, 2010). Les pur-sang arabes étant à l'origine de la fondation de nombreuses races de chevaux, il est possible que cette mutation puisse être retrouvée chez d'autres races. Néanmoins, il n'y a pas de cas décrits dans les autres races, ce qui laisse suspecter une absence ou un pourcentage de porteurs très faibles dans les autres races.

Cette étude a permis de développer un test génétique qui permet de dépister les chevaux porteurs de la mutation, offrant ainsi la possibilité aux éleveurs de raisonner les accouplements afin d'éviter la naissance de poulains atteints.

3. Mélanome et locus de grisonnement (G)

Les chevaux gris sont prédisposés aux mélanomes et au vitiligo (Rosengren Pielberg *et al.*, 2008 ; Sundström *et al.*, 2012 ; Curik *et al.*, 2013).

A. Manifestations cliniques

Les mélanomes sont parmi les tumeurs cutanées les plus fréquentes chez le cheval. D'un point de vue sémantique, on peut distinguer le terme mélanocytome, qui désigne une néoplasie bénigne de mélanocytes, des mélanomes ou mélanosarcomes, qui sont des tumeurs malignes (Scott et Miller, 2011).

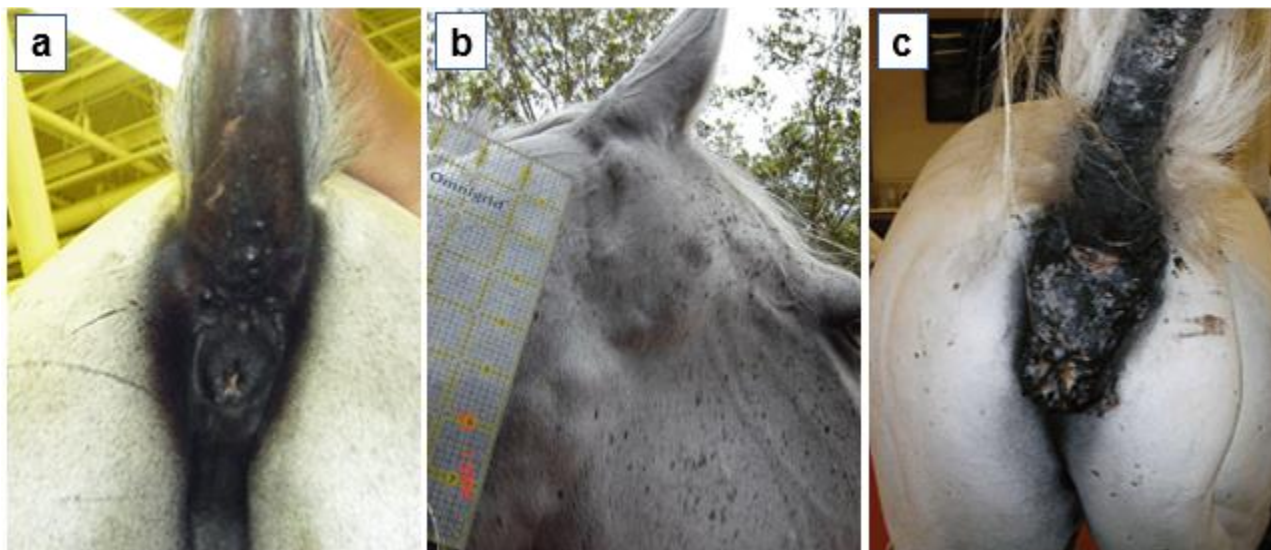
Il existe plusieurs types de mélanomes. Le mélanome congénital est très rare (3 cas décrits, (Moore *et al.*, 2013)) tandis que le mélanome multiple affecte 80% des chevaux gris âgés de plus de 15 ans. Le mélanome multiple se développe généralement chez les chevaux de plus de 6 ans, principalement chez les chevaux gris mais pas uniquement. Le mélanome isolé est peu commun et de petite taille (Scott et Miller, 2011).

Les localisations les plus fréquentes du mélanome sont la face interne de la queue et la région périanale (Photos 91). Moins fréquemment, les mélanomes peuvent intéresser les lèvres, la région parotidienne, la région périorbitaire, notamment les paupières, et les zones uro-génitales (vulve, prépuce) (Scott et Miller, 2011). Des cas de mélanomes primaires internes sont décrits ; notamment dans les intestins, le foie, la rate, la moelle osseuse, les nœuds lymphatiques (Moore *et al.*, 2013).

Les lésions sont généralement fermes, nodulaires ou en plaques et hyperpigmentées (Photos 91). Certaines peuvent être alopeciques voire ulcérées et excréter une substance noirâtre, d'autres peuvent présenter un pédoncule ou un aspect en grappe (Scott et Miller, 2011).

Photos 91 : Présentations cliniques du mélanome équin en régions périanale (a et c) et parotidienne (b).

(Source : Moore *et al.*, 2013)



Trois schémas de développement sont décrits. Dans le premier la croissance est lente, sur plusieurs années, sans apparition de métastases. Le second schéma est une croissance insidieuse : les mélanomes croissent lentement pendant plusieurs années avant de soudainement croître très vite et métastaser. Le troisième schéma est une croissance rapide et maligne d'emblée. Cependant une grande partie des chevaux présentant des mélanomes métastatiques ne développent pas de signes cliniques (Scott et Miller, 2011).

Un système de gradation est proposé par (Moore *et al.*, 2013), d'après des observations cliniques et l'analyse de nombreux cas reportés. Il comprend 5 grades, de 0 (absence de mélanome) à 4 (mélanome multiple à croissance rapide) (Tableau 8).

Tableau 8 : Classification clinique des mélanomes.

(Source : Moore *et al.*, 2013)

GRADE	CHARGE TUMORALE	DIAMETRE INDIVIDUEL	DISSEMINATION / METASTASES	CROISSANCE
0	Aucune	-	-	-
1	Unique	< 2 cm	Absente	Lente à quiescente : maintien d'un diamètre < 2 cm pendant des mois à des années
2	Multiple	< 2 cm	Absente	Lente à quiescente : maintien d'un diamètre < 2 cm pendant des mois à des années
3	Multiple	< 4 cm	Présente	Lente : < 25% pendant des mois à des années
4	Multiple	> 4 cm	Présente	Rapide : >25% en quelques semaines à quelques mois

A terme, les mélanomes peuvent constituer une gêne mécanique, notamment en région périanale ou parotidienne, qui rend la défécation, la déglutition et les mouvements impossibles (Moore *et al.*, 2013).

B. Génétique et éléments de pathogénèse

On rappelle que la mutation *G* correspond à une séquence dupliquée dans l'intron du gène *STX17* (voir II.3.A), mais est localisée dans une région qui contient 4 gènes : *NR4A3* (*nuclear receptor subfamily 4, groupe A, membre 3*), *STX17*, *TXNDC4* (*thioredoxin domain-containing 4*) et *INVS* (inversine).

L'analyse d'ADN de mélanomes de chevaux gris homozygotes et hétérozygotes a permis de montrer que le nombre de copies de la séquence dupliquée est significativement plus grand dans les tumeurs que dans les autres tissus. En effet un cheval hétérozygote *Gg* comporte trois copies (deux sur le chromosome portant la duplication et une autre copie sur l'autre chromosome) et un cheval homozygote *GG* quatre copies (deux et deux), tandis que le nombre de copies varie de cinq à huit dans l'ADN des tumeurs. Cela implique donc qu'il existe une amplification spécifique de la séquence dupliquée dans les mélanomes, plutôt que des amplifications d'une région génomique plus large comme c'est souvent le cas dans les tumeurs. Ainsi l'allèle gris ne prédispose pas seulement au développement de mélanome, c'est une force principale du développement de mélanome (Sundström *et al.*, 2012).

Dans les mélanomes, le gène *NR4A3* présente un haut niveau d'expression, et l'analyse de séquence d'ADN complémentaire de mélanomes a révélé que celui-ci provient seulement d'haplotype gris, ce qui suggère que la mutation possède un effet *cis*, sous-jacent à l'expression augmentée de *NR4A3* dans les mélanomes (Rosengren Pielberg *et al.*, 2008).

Pour récapituler, la mutation elle-même induit les mélanomes, dans lesquels elle est par ailleurs surexprimée.

D'autre part, une étude chez le Lipizzan (Rosengren Pielberg *et al.*, 2008) a montré l'existence d'une association très significative entre le génotype du locus *Agouti* et l'incidence des mélanomes ; ainsi les chevaux porteurs de l'allèle récessif noir *a* seraient sujets à développer des mélanomes. Cela suggère donc qu'un signal accru de *MCR1* promeut le développement de mélanome chez ces chevaux.

Pour une étude approfondie du mélanome du cheval gris, se référer à la thèse de DUCOS Camille (2019) *Mélanome équin : contribution à la recherche de biomarqueurs génétiques*.

C. Diagnostic et traitement

Le diagnostic du mélanome est épidémiologique et histologique : la ponction produit un liquide d'aspect noirâtre dont l'examen microscopique révèle une saturation en mélanine.

A l'histologie l'élément caractéristique est la présence de mélanocytes atypiques, épithélioïdes ou/et fusiformes, en couches, paquets ou cordelettes. Les mélanomes n'impliquent souvent pas l'épiderme ni la jonction dermo-épidermique (Scott et Miller, 2011).

Le traitement est chirurgical par exérèse, multimodal (radiothérapie, cryothérapie, ...) ou médical (cimétidine), et son choix s'effectue en fonction de la localisation et de la sévérité des mélanomes. Ainsi, le traitement chirurgical est souvent compromis par le caractère infiltratif des

tumeurs et leur localisation. La cimétidine ne permet pas une rémission totale mais un ralentissement voire un arrêt du développement des mélanomes et une réduction de la taille de ceux-ci.

4. Vitiligo et locus de grisonnement (G)

Le vitiligo est une dépigmentation acquise qualifiée d'idiopathique. Il se développe dans des zones qui n'ont pas subi de traumatisme particulier, contrairement au leukoderma, qui est acquis. Il n'y a aucune prédisposition d'âge ou de sexe, en revanche il est fréquent chez les chevaux gris, qui y sont prédisposés. Les chevaux de race Pur-Sang Arabe et les juments gestantes y sont aussi particulièrement prédisposés (Reed *et al.*, 2018).

Le vitiligo induit des zones de dépigmentation rondes et symétriques de 1 millimètre à 3 centimètres, parfois coalescentes, sur la face, en particulier sur le nez et des lèvres (Photos 92), autour des yeux (Photos 93), et sur la région ano-génitale (Reed *et al.*, 2018).

Photos 92 : Vitiligo chez une jument et un poney gris. La peau dépigmentée est rose et principalement localisée au bout du nez.

(Sources : photos personnelles)



Photos 93 : Vitiligo chez une jument Trotteur Français de robe baie.

(Source : photos personnelles)



Le diagnostic du vitiligo est essentiellement anamnestique et clinique. Une biopsie peut être réalisée. Elle révèle une absence complète de mélanine dans l'épiderme et un infiltrat inflammatoire réduit.

Il n'existe pas de traitement, l'application de glucocorticoïdes topiques et la supplémentation en cuivre sont décrites mais peu efficaces (Reed *et al.*, 2018).

5. Létalité embryonnaire et locus *Dominant White*

Pour rappel, la robe blanche est due à des mutations du gène *KIT* ; actuellement 28 allèles (*W1* à *W28*) ont été identifiés.

KIT est un gène fondamental pour le développement du système hématopoïétique, des gonades et pour la pigmentation. Ses variations ont des effets pléiotropes, décrits chez de nombreuses espèces de Vertébrés ; par exemple une modification de couleur, de l'anémie ou de la stérilité du mâle chez la Souris, le piébalisme et des leucémies chez l'Homme (Haase *et al.*, 2009).

Chez le cheval, les mutations du gène *KIT* sont très rarement retrouvées à l'état homozygote, ce qui laisse suggérer que l'homozygotie pour un grand nombre de ces mutations est létale pendant le développement embryonnaire précoce (Sponenberg et Bellone, 2017).

Cependant toutes les mutations de *KIT* ne sont pas forcément létales à l'état homozygote, en effet la mutation *W15* a été trouvée à l'état homozygote chez une pouliche totalement blanche de race Pur-Sang Arabe, issue de deux parents porteurs et partiellement blancs (Holl *et al.*, 2017). Cette pouliche était en parfaite santé jusqu'à l'âge de 2 mois et demi, mais a été ensuite euthanasiée en raison d'une colique. Les examens post-mortem ont révélé une maladie du muscle blanc, mais la mère ayant été par la suite diagnostiquée comme déficiente en sélénium, les auteurs concluent donc que la mort de la pouliche n'est probablement pas en lien avec son homozygotie pour l'allèle *W15*. Cette étude montre qu'une mutation faux-sens de *KIT*, à l'origine de modifications de la protéine moins importantes que les mutations non-sens, peut être viable à l'état homozygote. Par ailleurs, les individus hétérozygotes composites *W5W20* (Hauswirth *et al.*, 2013) et *W22W20* (N. Dürig *et al.*, 2017) sont également viables.

La comparaison des paramètres hématologiques des Franches-Montagnes porteurs et non porteurs de l'allèle *W1* n'a montré aucune différence significative (Haase *et al.*, 2010). L'étude n'a pas été conduite pour explorer les autres allèles. Cependant les pur-sang blancs semblent tout aussi performants que les autres pur-sang et ont même parfois montré de très bons résultats (Sponenberg et Bellone, 2017).

Il est conseillé de ne pas faire reproduire deux chevaux de phénotype *dominant white* ensemble, afin de prévenir une éventuelle mortalité embryonnaire.

6. L'overo et le syndrome léthal du poulain overo blanc (ou *Overo Lethal White Foal Syndrome*)

A. Manifestations cliniques et diagnostic

L'*Overo Lethal White Syndrome* (OLWS) est un syndrome d'origine génétique qui atteint tous poulains nouveau-nés homozygotes pour l'allèle overo (gène *EDNRB*, mutation *Lys118*, voir 1.3.e.a ci-dessus), issus de parents overo. Ce syndrome est caractérisé par une robe blanche et une aganglionose intestinale (Photo 94) (Santschi *et al.*, 1998).

Un poulain homozygote pour *Lys118* naît entièrement blanc ou presque avec les iris bleus. Dans un premier temps il peut sembler normal et se mettre à téter. Il développe ensuite dans les 12 premières heures des signes de colique obstructive (McCabe *et al.*, 1990 ; Metallinos *et al.*, 1998) : le poulain est alors inconfortable, il se couche et se roule, et ne passe pas de méconium. Par ailleurs, une surdité est associée à ce syndrome (Magdesian *et al.*, 2009) mais peut passer inaperçue.

Photo 94 : Poulain atteint de l'OLWS. Il présente une robe entièrement blanche et des signes de coliques dans les 12 premières heures de vie qui lui sont fatales.

(Source : Lightbody, 2002)



L'impaction de méconium constitue le diagnostic différentiel, mais la robe blanche doit toute suite orienter vers l'OLWS. Le diagnostic est essentiellement anamnastico-clinique puis post-mortem. A l'autopsie, le gros intestin est pâle, tortueux et présente des zones de sténose, cependant la lumière est toujours visible malgré une muqueuse et une séreuse fortement plissées. Le caecum est distendu par du méconium. Les cellules ganglionnaires sont totalement absentes dans le petit et gros colon ainsi que dans les parties distales de l'intestin grêle (iléon, parfois jusqu'au jéjunum). Dans ces régions dépourvues de ganglions, la musculature et la sous-muqueuse sont minces et les plexus nerveux totalement absents, hormis quelques fibres nerveuses. En revanche l'intestin grêle en régions proximale et intermédiaire présente des cellules ganglionnaires et des plexus nerveux d'apparence normale. L'analyse histologique cutanée révèle une absence totale de cellules pigmentaires (Vonderfecht *et al.*, 1983 ; McCabe *et al.*, 1990)

Le diagnostic de certitude reste la confirmation par test génétique de l'homozygotie pour l'allèle overo (ou *Lys118*) du gène *EDNRB*. Il est à noter qu'il ne faut pas condamner d'office tous les poulains blancs. Les *patterns dominant white*, *splashed white* et sabino peuvent être à l'origine d'un poulain pourvu d'une robe presque à complètement blanche mais sain.

B. Pathogenèse

La protéine EDNRB participe à la régulation de la migration et de la survie des cellules souches de la crête neurale précurseurs des cellules ganglionnaires et des mélanocytes. Pour mémoire, la mutation entraîne un changement de conformation de la protéine au niveau d'un de ses domaines transmembranaires (voir 1.3.e.a ci-dessus). La protéine EDNRB des poulains homozygotes pour *Lys118* ne présente que 20% de ses capacités fonctionnelles par rapport à un cheval hétérozygote ou homozygote pour l'allèle sauvage. La migration et la survie normales des cellules souches

ganglionnaires et mélanocytaires est donc compromise. Cela résulte en un défaut de mélanocytes, révélé par la robe blanche et les iris bleus, et un défaut de cellules ganglionnaires dans le gros intestin et l'iléon distal, qui se traduit par une aganglionose sous muqueuse et musculuse de la paroi de ces portions. L'innervation de l'intestin est alors compromise ce qui cause une constipation fatale (McCabe *et al.*, 1990 ; Lightbody, 2002).

Chez l'Homme les polymorphismes sur *EDNRB* sont à l'origine de la maladie de Hirschsprung (affection intestinale obstructive héréditaire causée par l'absence de ganglions mésentériques sur une longueur variable d'intestin) et associés à de l'hypopigmentation (syndrome de Waardenburg) (Santschi *et al.*, 1998 ; Amiel *et al.*, 2007).

C. Pronostic et prévention

Il n'existe pas de traitement à cette affection, la seule issue est l'euthanasie. Un traitement médical de soutien (fluidothérapie, énéma, anti-inflammatoires) permet de maintenir le poulain en vie quelques jours mais est uniquement palliatif. Un *by-pass* chirurgical a été réalisé mais sans succès car il n'y a pas eu de reprise du transit, probablement en raison de l'absence de plexus nerveux (McCabe *et al.*, 1990). La seule prévention possible est de raisonner les accouplements pour ne pas faire naître de poulains homozygotes pour l'allèle overo (*Lys118*). Celui-ci passe notamment par identification du phénotype des reproducteurs : il ne faut pas accoupler deux parents overo. On rappelle que bien que seul le pattern frame est causé par l'allèle overo *Lys118*, l'expression de celui-ci peut être masquée par un autre pattern. Cependant, cette précaution est insuffisante : en effet quelques chevaux tobiano ou sans pattern dépigmenté sont malgré tout hétérozygotes pour la mutation (voir 1.3.e.a ci-dessus). Ainsi la réalisation d'un test génétique est indispensable, en particulier chez les chevaux de race Quarter Horse, American Paint Horse et Thoroughbred, chez qui il est connu que l'allèle *Lys118* ségrège fréquemment (Metallinos *et al.*, 1998 ; Lightbody, 2002). Pour exemple, une jument Quarter Horse alezane sans pattern a donné naissance à un poulain atteint du OLWS en 2002 (Lightbody, 2002).

7. Phénotype *Splashed White* et surdité

A. Association entre phénotype *splashed white* et surdité

L'association entre un pattern de dépigmentation et de la surdité est courante et identifiée chez plusieurs races de chiens, chez le chat blanc, chez les rongeurs et même chez l'Homme (syndrome de Waardenburg par exemple). Cependant, cette association a été très peu étudiée chez le cheval (Magdesian *et al.*, 2009), ainsi que la surdité elle-même (Harland *et al.*, 2006 ; Aleman *et al.*, 2014).

La première série de cas de surdité associée à une altération de la pigmentation chez le cheval a été publiée par Magdesian *et al.* en 2009. Il s'agit de chevaux congénitalement sourds. Cette surdité est proche du syndrome de Waardenburg de type II chez l'Homme. L'étendue de dépigmentation associée à la surdité est très variable, cependant, une dépigmentation extensive de la face, au minimum deux membres ainsi que la présence d'un ou deux yeux bleus ou partiellement hétérochromes étaient des éléments constants. Ces éléments correspondent bien au phénotype *splashed-white* (Magdesian *et al.*, 2009). Depuis la publication de cette étude, les locus responsables du pattern *splashed white* ont été élucidés (Hauswirth *et al.*, 2012), mais il n'y a pas encore de publication à ce jour étudiant l'association entre la surdité et ces locus. En 2014, une nouvelle publication sur les potentiels auditifs évoqués du tronc cérébral chez le cheval constate les mêmes caractéristiques de dépigmentation (phénotype *splashed white*) chez les chevaux congénitalement sourds que l'étude précédente (Aleman *et al.*, 2014).

Dans ces deux études, tous les chevaux sourds étaient de race American Paint Horse. Ainsi, l'American Paint Horse semble être une race prédisposée, mais cela réside probablement du fait que la présence d'un pattern overo, tobiano, tovero, sabino ou *splashed white* est de rigueur dans le stud-book de la race (Magdesian *et al.*, 2009 ; Aleman *et al.*, 2014).

B. Eléments de pathogénie

Les mélanocytes sont des composants essentiels de l'oreille interne : ils se situent dans la *stria vascularis*. La *stria vascularis* est un réseau de capillaires intraépithéliaux qui joue un rôle essentiel dans la modulation chimique de l'endolymphe qui est le vecteur de transmission des vibrations produites par les sons (Roydon Price et Fisher, 2001 ; Roydon Price et Fisher, 2001). Ce n'est pas la capacité des mélanocytes à produire des pigments qui est importante, en effet il n'y a pas de surdité chez les animaux albinos bien que leurs mélanocytes soient dépourvus de mélanine. Ils jouent un rôle dans le développement de la *stria vascularis*. Il existe trois hypothèses majeures concernant leur rôle : ils interviendraient au niveau des interactions intercellulaires, de la distribution des pompes et canaux ioniques ou de la dégradation de la lame basale nécessaire aux flux libres ioniques (Steel et Barkway, 1989).

Le gène *MITF* joue un rôle pivot sur la population mélanocytaire. Il intègre des signaux extracellulaires modifiant son expression durant le développement mélanocytaire, et son expression persiste également dans les mélanocytes matures de la peau. Le facteur de transcription *PAX3* stimule l'expression de *MITF* (Roydon Price et Fisher, 2001). En cas de mutation sur *MITF* ou *PAX3* comme c'est le cas pour les chevaux présentant un pattern *splashed white*, l'expression de *MITF* est altérée. Cela aboutit en des défauts de migration ou de survie mélanocytaire, ce qui explique la dépigmentation cutanée. Les mélanocytes peuvent être alors absents dans l'oreille interne, d'où la surdité : le fonctionnement de la *stria vascularis* est perturbé et les vibrations produites par les sons ne sont plus intégrées. Le rôle précis de *MITF* restant inconnu dans l'oreille interne, une autre hypothèse pour expliquer la surdité est que l'expression de *MITF* pourrait être importante pour les canaux ioniques potassium entre la *stria vascularis* et l'endolymphe, et ainsi les mutations perturberaient les échanges et donc le déclenchement d'un potentiel d'action dans les fibres nerveuses (Roydon Price et Fisher, 2001).

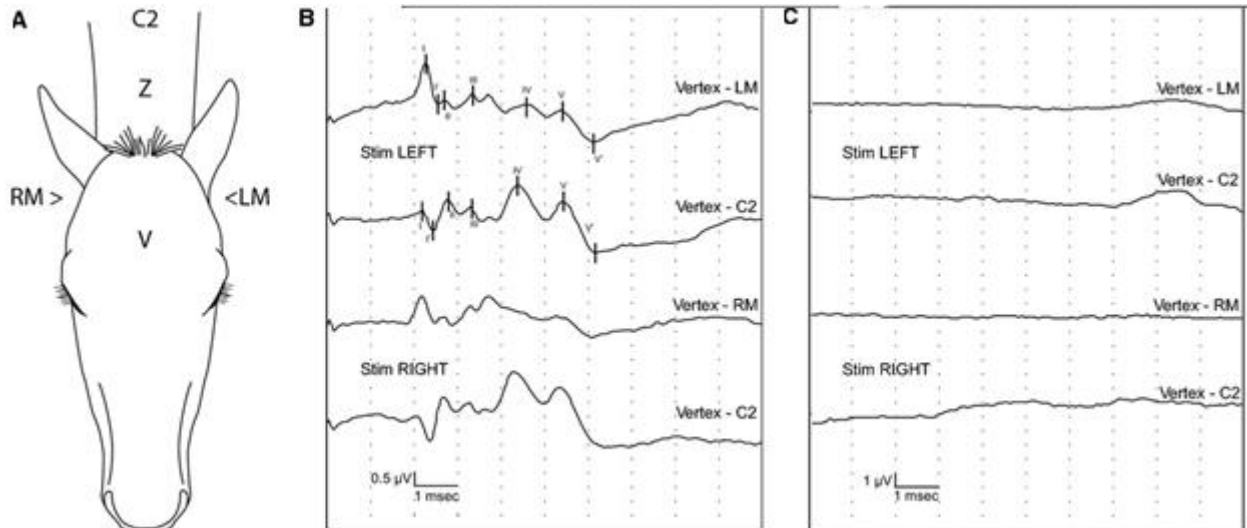
C. Manifestations cliniques et diagnostic

La surdité est une affection sous-diagnostiquée chez le cheval. Elle doit être suspectée chez un cheval qui ne réagit pas aux bruits extérieurs. Les chevaux sourds sont facilement effrayés et très dépendant des stimuli visuels ou tactiles (Harland *et al.*, 2006). Comme la surdité est évidemment associée à une absence de réponse aux ordres vocaux, elle est fréquemment à l'origine de mauvais traitements (Magdesian *et al.*, 2009).

La suspicion d'une surdité est anamnétique (robe, circonstances d'apparition) et clinique. Un pivotement des oreilles ou de la tête en réaction à un bruit soudain permet d'écarter une surdité totale. Cependant, le diagnostic définitif ne peut être donné qu'après la réalisation d'un test des potentiels évoqués auditifs du tronc cérébral (en anglais : *Brainstem Auditory Evoked Potentials* (BAEP)) (Harland *et al.*, 2006). Pour réaliser ce test, des écouteurs sont placés dans ou à proximité des oreilles du cheval, ils émettent des sons et les potentiels associés sont enregistrés par des électrodes (Figures 14 a). Chez un animal sain, cinq à sept vagues sont observables, tandis qu'elles sont absentes chez un cheval sourd (Figures 14 b et c) (Harland *et al.*, 2006 ; Aleman *et al.*, 2014).

Figures 14 A, B et C : Potentiels Auditifs Evoqués du tronc cérébral

(A) Placement des électrodes : au sommet du front (V), en regard de la vertèbre C2 (C2), du mastoïde droit (RM) et gauche (LM) ; (B) Tracés des potentiels obtenus sur chaque oreille d'un cheval sain : on observe cinq vagues. (C) Tracés des potentiels obtenus chez un cheval atteint de surdité congénitale associée à une robe *splashed white* : il n'y a aucune vague (source : Aleman *et al.*, 2014).



8. Robe Léopard et affections oculaires

La cécité nocturne congénitale non évolutive, ou *congenital stationary night blindness* (CSNB) en anglais, est une affection qui a été rapportée pour la première fois en 1977 chez un cheval de race Appaloosa (Gilger, 2016).

A. La cécité nocturne

a. Manifestations cliniques

Les chevaux atteints par cette affection présentent dès leur naissance une vision nocturne déficiente ou totalement absente, mais dont la sévérité n'évolue pas dans le temps. Chez les cas les plus sévères, la vision le jour peut également être impactée (Gilger, 2016).

Cette déficience visuelle nocturne se manifeste notamment par une appréhension ou une réticence à entrer dans des endroits sombres, qui sont souvent mis à tort sur le compte du caractère du cheval par les propriétaires (Sandmeyer *et al.*, 2007).

Elle peut s'accompagner d'autres anomalies oculaires : une microphthalmie, un nystagmus, un strabisme dorsomédial (Photo 95 et Photo 96), un regard anormalement fixe lorsque la tête est élevée (*star gazing*).

Photo 95 : Strabisme dorsomédial chez un cheval de robe *few spots leopard* atteint de CSNB.

(Source : Sandmeyer *et al.*, 2007)



Photo 96 : Strabisme dorso-médial bilatéral chez un cheval Knabstrup bai léopard.

(Source : <https://www.deviantart.com/trottergirl/art/Bipo-8-404884360>)



b. Physiopathologie

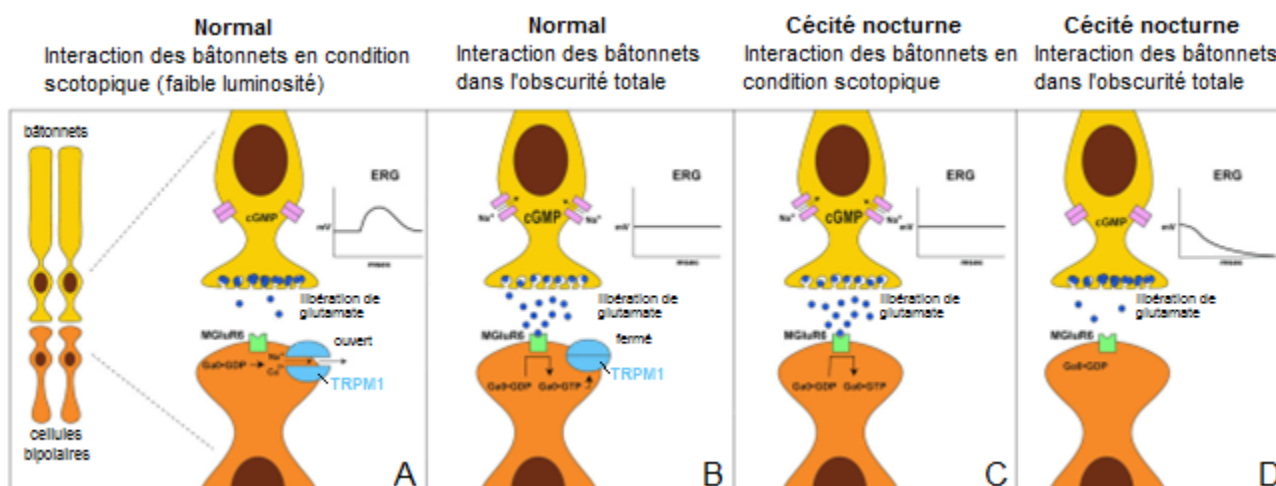
La vision des mammifères est régie par la perception des stimuli lumineux grâce à des photorécepteurs de deux types, situés dans la rétine : les bâtonnets et les cônes. Les cônes sont seulement capables de percevoir des intensités lumineuses fortes, tandis que les bâtonnets perçoivent également les intensités lumineuses très faibles. (Zeitz *et al.*, 2015). La vision de jour est ainsi principalement médiée par les cônes, tandis que la vision de nuit par les bâtonnets. Les photorécepteurs sont en relation avec des cellules bipolaires, sensible à la variation de la concentration en glutamate. On en distingue également deux types : les cellules bipolaires de type ON et les cellules bipolaires de type OFF. Les cellules bipolaires ON sont en relation avec les bâtonnets et les cônes, tandis que les cellules bipolaires OFF ne sont en relation qu'avec les cônes (Rigaudière et Le Gargasson, 2013).

Nous nous intéressons ici aux bâtonnets et aux cellules bipolaires ON, car le CSNB affecte cette voie.

En présence de lumière, les bâtonnets de la rétine absorbent les photons et s'hyperpolarisent, ce qui conduit à une diminution de la libération de glutamate. La diminution de la concentration de glutamate induit l'ouverture des canaux calcium TRPM1, situés sur les cellules bipolaires ON, ce qui entraîne la dépolarisation des cellules bipolaires ON. Au contraire lorsque la lumière est faible, comme la nuit, les bâtonnets sont dépolarisés et libèrent du glutamate ce qui ferme les canaux calcium TRPM1 ; les cellules bipolaires ON sont alors hyperpolarisées (Figure 15) (Bellone *et al.*, 2013).

Figure 15 : Fonctionnement des voies visuelles en présence de lumière ou dans l'obscurité chez le cheval sain et le cheval atteint de cécité nocturne non évolutive congénitale.

(A) Lors de luminosité basse chez un cheval normal, les bâtonnets absorbent les photons et ce qui conduit à une libération de glutamate faible. Les canaux calcium TRPM1 s'ouvrent ce qui dépolarise les cellules bipolaires ON. (B) Lors d'obscurité totale, les bâtonnets sont dépolarisés ce qui augmente la libération de glutamate ; cela entraîne la fermeture des canaux calcium TRPM1 et hyperpolarise les cellules bipolaires ON. (C et D) Le cheval atteint de CSNB ne possède pas de canaux calcium TRP1 fonctionnels. Les cellules bipolaires ON restent hyperpolarisées dans l'obscurité total comme lors de luminosité faible : le cheval est aveugle la nuit (source : Bellone *et al.*, 2013).



Le complexe léopard est dominant tandis que le CSNB est une maladie récessive, rencontrée donc chez les chevaux homozygotes pour l'allèle *LP*.

Comme expliqué plus précisément dans la Deuxième partie.3.H, l'allèle *LP* correspond à une mutation sur le gène *TRPM1* qui code pour un canal calcique ; et outre ses conséquences sur la mélanogénèse, cette mutation est également responsable d'une polyadénylation prématurée de la protéine TRPM1 qui inactive sa capacité de réponse aux variations de concentration de glutamate. Ainsi, seuls les chevaux léopards homozygotes pour l'allèle *LP* sont atteints car ils ne possèdent plus aucun canal TRPM1 fonctionnel. Lorsque les deux allèles sont mutés, les canaux calcium TRPM1 ne répondent pas aux variations de concentration de glutamate, en conséquence les cellules bipolaires ON restent hyperpolarisées (Bellone *et al.*, 2008 ; Bellone *et al.*, 2013).

Comme mentionné plus haut, il arrive que la vision de jour soit également affectée. Il s'agirait d'artefacts (Zeitz *et al.*, 2015).

c. Diagnostic

Le diagnostic de l'affection est à la fois anamnestique (présence du pattern Léopard, durée d'évolution), clinique et électrorétinographique.

La présence d'un pattern léopard peut orienter en premier lieu le diagnostic. En revanche, il est insuffisant pour conclure à un CSNB. La détermination de l'homozygotie ou hétérozygotie pour *LP* par observation du pattern est très difficile en raison de son caractère évolutif et par la présence d'autres patterns concomitants qui peuvent le modifier. L'utilisation du test génétique est intéressante pour le diagnostic (Sandmeyer *et al.*, 2012).

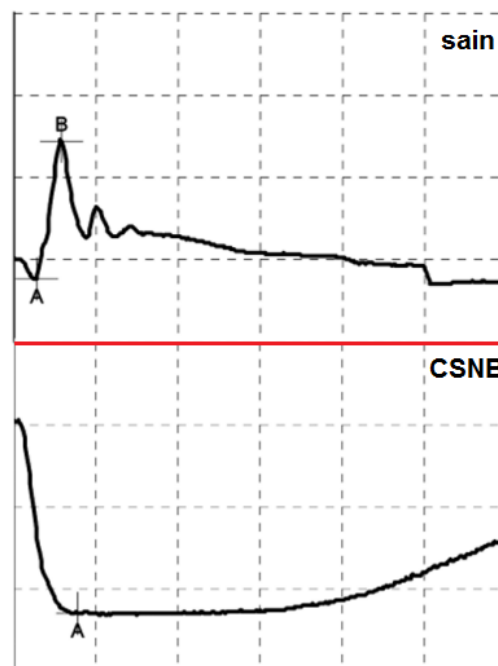
La rétine ne présente aucune anomalie à l'examen ophtalmoscopique, ni à l'analyse histologique (qui n'est quasiment jamais réalisée en pratique).

Le seul examen complémentaire permettant de confirmer un CSNB à l'heure actuelle est l'électrorétinogramme. L'électrorétinogramme permet d'évaluer la réponse de la rétine aux stimuli lumineux de nuit. Le cheval est d'abord adapté à l'obscurité pendant environ 25 minutes, puis des stimuli lumineux d'intensité différentes sont exercés (Sandmeyer *et al.*, 2007) et réponses enregistrées par des électrodes placées sur la cornée de chaque œil, sur la peau et sur l'os occipital. Lorsque l'ERG est normal, on observe deux vagues : une vague A qui correspond à l'hyperpolarisation des bâtonnets et une vague B qui correspond à la dépolarisation des cellules bipolaires ON.

Chez les chevaux atteints de cécité nocturne non évolutive congénitale, l'électrorétinogramme est modifié : seule la vague A correspondant aux bâtonnets est détectée (l'amplitude augmente avec l'adaptation à l'obscurité), tandis que la vague B est absente puisque les cellules bipolaires ON restent hyperpolarisées en permanence (Figure 16). C'est ce qu'on appelle un ERG négatif (Sandmeyer *et al.*, 2007 ; Bellone *et al.*, 2008 ; Sandmeyer *et al.*, 2012 ; Bellone *et al.*, 2013).

Figure 16 : Electrorétinogrammes effectués après adaptation à l'obscurité d'un cheval sain et d'un cheval atteint de CSNB.

La vague A du cheval CSNB est d'amplitude augmentée et la vague B est absente (source : Gilger, 2016).



d. Gestion et prévention

Il n'existe aucun traitement pour cette affection. Ainsi la gestion d'un cheval atteint de cécité nocturne non évolutive congénitale est hygiénique : il s'agit de faciliter son quotidien en adaptant son environnement et ses manipulations (Sandmeyer *et al.*, 2007) : éviter de le monter la nuit ou dans un lieu sombre, le garder en box la nuit *etc.*

La prévention consiste donc à éviter la naissance de chevaux homozygotes pour *LP* en réalisant des choix de reproduction raisonnés : il faudrait éviter d'accoupler deux chevaux porteurs de *LP*, donc deux chevaux porteurs du complexe Léopard. En pratique, ce conseil est peu applicable chez les races Appaloosa, Knabstrupper, Miniature et d'autres races, chez qui le pattern est un critère d'appartenance au stud-book. Heureusement, la plupart des chevaux atteints de CSNB présentent peu de signes cliniques (Sandmeyer *et al.*, 2007). Les chevaux homozygotes pour *LP* sont des reproducteurs précieux pour les éleveurs puisqu'ils permettent d'obtenir à coup sûr des produits porteurs du pattern. La connaissance de l'affection permet aux éleveurs de faciliter et sécuriser la manipulation de ces chevaux (Gilger, 2016).

Le cheval n'est pas la seule espèce atteinte par le CSNB. Le CSNB est ainsi décrit chez la souris, le rat, le chien (Beagle), le poisson zèbre et même chez l'Homme. On en distingue ainsi différentes formes, dont l'origine génétique et les manifestations cliniques sont variées (Zeitz *et al.*, 2015).

B. L'uvéïte récurrente

L'uvéïte récurrente équine est une affection fréquente, qui touche plus de 25% des chevaux aux Etats-Unis (Curling, 2011). Les séquelles sont importantes et peuvent conduire à la perte de vision. Elle constitue ainsi un vice rédhibitoire à la vente. Les chevaux de race Appaloosa, sélectionnés pour leur robe léopard, y sont prédisposés.

a. Manifestations cliniques

L'uvéïte récurrente, ou *equine recurrent uveitis* en anglais (URE), est caractérisée par la récurrence de crises inflammatoires de l'uvée après des phases de rémission. La phase inflammatoire aiguë est caractérisée par un œil « rouge » et de la douleur : œdème cornéen, hyperhémie conjonctivale, effet Tyndall, blépharospasme, épiphora, myosis et hypotonie (Photo 97). L'inflammation peut également atteindre le segment postérieur de l'œil ; on peut alors observer une infiltration inflammatoire du vitrée, une inflammation de la rétine voire un détachement de rétine. Chaque cycle est de plus en plus sévère et conduit à des séquelles comme une cataracte, des synéchies, voire de la phtisie et/ou une perte de vision (Curling, 2011 ; Gilger, 2011).

Photo 97 : Photo d'un cheval en phase inflammatoire d'uvéite récurrente. On observe un épiphora, un œdème cornéen et un blépharospasme qui traduit une douleur oculaire importante.

(Source : Gilger, 2011)



Il existe une forme insidieuse pour laquelle l'inflammation intraoculaire reste de bas grade (Curling, 2011 ; Fritz *et al.*, 2014). Les signes sont beaucoup plus frustes, le cheval ne semble pas douloureux (Gilger, 2011) ; ainsi l'uvéite n'est parfois diagnostiquée qu'à partir du moment où des séquelles sont visibles (Photo 98). Cette forme est le plus souvent bilatérale, mais le degré de sévérité entre les deux yeux peut être différent (Fritz *et al.*, 2014). L'uvéite récurrente insidieuse est la forme la plus fréquente chez les chevaux de race Appaloosa (Curling, 2011).

Photo 98 : Stade chronique et terminal d'uvéite récurrente chez un cheval de race Appaloosa, qui présentait une forme insidieuse non douloureuse. Une phtisie, un myosis marqué et des synéchies sont notamment observables.

(Source : Gilger, 2011)



La dégénérescence des granules iriens et la dépigmentation de la bordure de l'iris sont des séquelles très caractéristiques de l'uvéite récurrente (Photo 99). La récurrence des uvéites tend à changer la couleur de l'iris, par pigmentation ou dépigmentation de celle-ci. D'autres séquelles, recherchées systématiquement lors de visite d'achat, concernent la zone sans tapis de la rétine : des « *bullets holes* » qui sont de multiples et petites zones focales et circulaires de dépigmentation ou des « *ailes de papillon* » qui sont des zones d'hypopigmentation en forme d'ailes de papillons nasalement ou temporairement au disque optique (Photos 100) (Gilger, 2011). Il est commun

d'observer des synéchies postérieures, des pigments sur la capsule antérieure du cristallin, une occlusion pupillaire, des cataractes (focales ou diffuses), une kératite avec calcification. Parfois une luxation ou une subluxation du cristallin peut se développer (Gilger, 2011).

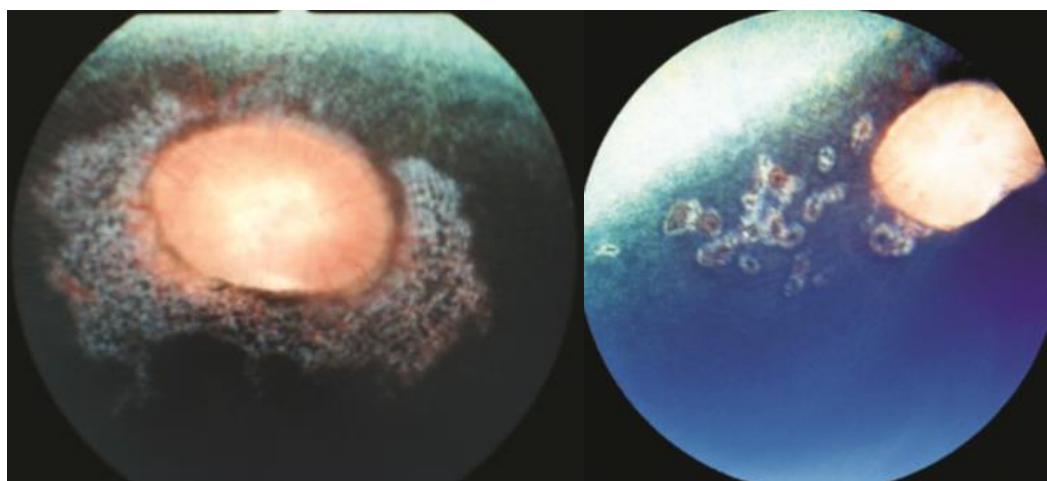
Photo 99 : Dégénérescence des granules iriens et hypopigmentation de la bordure de l'iris.

(Source : Gilger, 2011)



Photos 100 : Lésions rétinienne très suggestives d'uvéite récurrente : à gauche en forme d'ailes de papillons, à droite en « bullet holes ».

(Source : Gilger, 2011)



b. Physiopathologie

La première crise est multifactorielle : une infection virale, bactérienne (*Streptococcus equi*, *Escherichia coli*, *Rhodococcus equi*, *Leptospira interrogans*), ou parasitaire (*Onchocerca cervicalis*, *Toxoplasma gondii*), un traumatisme, ou une maladie systémique peuvent déclencher l'uvéite primaire. La récurrence des crises est à médiation immunitaire cellulaire (Curling, 2011 ; Gilger, 2011).

Trois marqueurs génétiques sont significativement associés à l'uvéite récurrente chez le cheval de race Appaloosa : l'un est situé dans l'intron 11 du gène *TRPM1*, locus de la robe léopard, et les deux autres sont des marqueurs proches des gènes du complexe d'histocompatibilité majeur. Ainsi, le locus léopard et d'autres facteurs génétiques contribueraient au risque d'uvéite récurrente chez les chevaux Appaloosa (Fritz *et al.*, 2014).

Le lien entre le locus léopard et l'uvéite récurrente n'est pas encore élucidé, mais une hypothèse est avancée : une réaction auto-immune aux canaux TRPM1 mutés des mélanocytes de l'uvée pourrait expliquer la maladie. En effet, chez l'Homme certaines uvéites sont causées par des

réactions auto-immunes contre des protéines mélanocytaires, et des anticorps anti-TRPM1 ont été détectés chez des patients atteints de rétinopathie (Fritz *et al.*, 2014). Cependant chez le cheval léopard, on a seulement démontré que l'expression de TRPM1 est altérée dans la peau et dans les cellules bipolaires de la rétine (Bellone *et al.*, 2008) ; l'existence de canaux TRPM1 mutés dans les mélanocytes de l'uvée des chevaux atteints d'uvéite récurrente reste à prouver. Une autre hypothèse est qu'un allèle à proximité du gène *TRMP1* représente un risque génétique et soit sélectionné involontairement en même temps que l'allèle *LP* du locus léopard (Fritz *et al.*, 2014).

Ainsi, les chevaux de race Appaloosa sont huit fois plus atteints d'uvéites récurrentes que les chevaux d'autres races (Fritz *et al.*, 2014).

Conclusion

Le cheval est une espèce présentant une riche diversité phénotypique en termes de couleurs de robes. Deux gènes fondamentaux, *MC1R* et *Agouti*, déterminent les trois robes de bases : alezan, noir et bai. Les autres robes résultent d'une combinaison de dilution(s) et ou de panachure(s) ajoutées à ces robes de bases. Les dilutions sont dues à des mutations sur des gènes codant pour des protéines de régulation du développement et de maturation des mélanosomes (*Silver*, gène *PMEL17*), d'homéostasie du mélanosome et de transport des pigments (*Cream*, gène *MATP* ; Champagne, gène *SLC36A1* ; Lavande, gène *Myo5A*), ou de répartition des mélanocytes pilaires (*Dun*, gène *TBX3*). Certains gènes, comme celui à l'origine de la dilution *Mushroom*, restent inconnus à ce jour. Les panachures sont causées par des mutations sur des gènes essentiels au développement mélanocytaire qui a lieu lors du développement embryonnaire et/ou essentiels à la survie des mélanocytes différenciés et des mélanocytes souches : *KIT* (Tobiano, Rouan, *Dominant White*, Sabino), *MITF* (*Splashed White*), et indirectement *PAX3* (*Splashed White*), *EDNRB* (*frame overo*) et *TRPM1* (Complexe Léopard).

Certaines de ces robes sont associées à des maladies. En effet, certaines mutations présentent ce qu'on appelle un effet pléiotrope : elles agissent sur plusieurs phénotypes. Ainsi certaines mutations entraînent une robe particulière et une affection spécifique. Par exemple, la robe *silver* est associée au syndrome d'anomalies congénitales oculaires multiples, comprenant notamment des kystes ciliaires, une mégalocornée et une dysplasie iridienne. La robe Lavande chez les poulains de race Pur- Sang Arabe est une composante du Syndrome du poulain Lavande, qui touche les poulains nouveau-nés Pur-Sang Arabe de lignée Egyptienne principalement et qui se manifeste par des troubles neurologiques de type syndrome tétanique. Leur survie est possible quelques jours avec un traitement de support mais l'issue est toujours fatale. La robe grise prédispose au mélanome et au vitiligo. Les mélanomes sont extrêmement fréquents chez les chevaux gris âgés de plus de 15 ans. Souvent bénins, ils constituent surtout une gêne mécanique car ils sont majoritairement situés en région périanales ou parotidiennes. Mais certains d'entre eux sont malins et engagent le pronostic vital du cheval. En revanche, le vitiligo est bénin car uniquement cosmétique. A ce jour, 28 allèles différents du gène *KIT* sont connus pour causer la robe blanche « *dominant white* ». Ces allèles étant très rarement retrouvés à l'état homozygote chez les chevaux blancs, il est admis que la majorité de ces allèles sont responsables de létalité embryonnaire ou fœtale. L'allèle causant le pattern *frame overo* produit des poulains blancs lorsqu'il est à l'état homozygote : c'est le syndrome du poulain overo blanc léthal (OLWS). Ces poulains présentent rapidement des signes de coliques dus à une aganglionose du gros intestin et de l'iléon expliquant une absence totale de transit. Il n'existe aucun traitement et l'issue de ce syndrome est fatale. Le pattern *splashed white* est associé à de la surdité lorsqu'il est extensif (les yeux sont bleus ou hétérochromes). Il est également suspecté que ce pattern est associé à de la létalité embryonnaire lorsque certains allèles sont à l'état homozygote. Enfin, le complexe léopard est indissociable de la cécité nocturne congénitale non évolutive. Comme son nom l'indique, la vision de ces chevaux est nulle la nuit et parfois (sévèrement) altérée le jour. L'affection est récessive, seuls les chevaux homozygotes sont atteints. Le locus léopard est également associé à l'uvéite récurrente, une série des crises inflammatoires plus ou moins généralisées d'un ou des deux yeux, très douloureuses et aux séquelles fréquentes, allant jusqu'à la perte de vision.

La prévention de ces maladies héréditaires, se résume à la pratique d'une reproduction raisonnée : il faut absolument éviter de croiser deux chevaux porteurs de l'allèle responsable. Il est

judicieux d'accoupler un porteur avec un non porteur pour éviter la naissance de poulains à risque (homozygotes pour la mutation). Le conseil est valable aussi pour la surdité du cheval *splashed white* : un cheval hétérozygote présente un pattern moins étendu et est donc moins susceptible d'être sourd. L'utilisation des tests génétiques est une aide précieuse voire indispensable afin de dépister les porteurs des allèles mutés (silver chez les alezans, frame chez les overos, *splashed white* chez les chevaux avec beaucoup de balzanes et de marquage facial ou chez les chevaux overo, lavande chez les chevaux Pur-Sang Arabes).

Les tests génétiques sont également utiles voire nécessaires à l'identification précise de certaines robes diluées et/ou avec panachure, car les phénotypes sont très proches et peuvent se superposer. Enfin ils sont également une aide précieuse dans le choix des reproducteurs lorsqu'il s'agit d'obtenir un poulain d'une robe particulière.

Une grande part de la génétique des robes a été élucidée. Néanmoins il reste encore des inconnues, à l'origine parfois de surprises dans les élevages.

Liste des références bibliographiques

- ALEMAN M., HOLLIDAY T.A., NIETO J.E., WILLIAMS D.C. (2014) Brainstem Auditory Evoked Responses in an Equine Patient Population: Part I – Adult Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 28(4), 1310-1317
- AMIEL J., SPROAT-EMISON E., GARCIA-BARCELO M., *et al.* (2007) Hirschsprung disease, associated syndromes and genetics: a review. *Journal of Medical Genetics* 45(1), 1-14
- ANDERSSON L.S., WILBE M., VILUMA A., *et al.* (2013) Equine multiple congenital ocular anomalies and silver coat colour result from the pleiotropic effects of mutant PMEL. *PLoS ONE* 8(9), e75639
- AU J.S.-Y., HUANG J.-D. (2002) A tissue-specific exon of myosin Va is responsible for selective cargo binding in melanocytes. *Cell Motil. Cytoskeleton* 53(2), 89-102
- BELLONE R.R., BROOKS S.A., SANDMEYER L., *et al.* (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(4), 1861-1870
- 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(10)
- BROOKS S.A., TERRY R.B., BAILEY E. (2002) A PCR-RFLP for KIT associated with tobiano spotting pattern in horses. *Animal Genetics* 33(4), 301-303
- BROOKS S.A., LEAR T.L., ADELSON D.L., BAILEY E. (2007) A chromosome inversion near the KIT gene and the Tobiano spotting pattern in horses. *Cytogenet. Genome Res.* 119(3-4), 225-230
- BROOKS S.A., GABRESKI N., MILLER D., *et al.* (2010) Whole-genome SNP association in the horse: identification of a deletion in myosin Va responsible for Lavender Foal Syndrome. *PLoS Genet.* 6(4), e1000909
- BROOKS S.A., BAILEY E. (2005) Exon skipping in the KIT gene causes a Sabino spotting pattern in horses. *Mamm. Genome* 16(11), 893-902
- BRUNBERG E., ANDERSSON L., COTHRAN G., *et al.* (2006a) A missense mutation in PMEL17 is associated with the Silver coat color in the horse. *BMC Genet.* 7, 46
- BRUNBERG E., ANDERSSON L., COTHRAN G., *et al.* (2006b) A missense mutation in PMEL17 is associated with the Silver coat color in the horse. *BMC Genet.* 7, 46
- CAPOMACCIO S., MILANESI M., NOCELLI C., *et al.* (2017) Splicing site disruption in the KIT gene as strong candidate for white dominant phenotype in an Italian Trotter. *Anim. Genet.* 48(6), 727-728
- COOK D., BROOKS S., BELLONE R., BAILEY E. (2008) Missense mutation in exon 2 of SLC36A1 responsible for champagne dilution in horses. *PLoS Genet.* 4(9), e1000195
- CURIK I., DRUML T., SELTENHAMMER M., *et al.* (2013) Complex inheritance of melanoma and pigmentation of coat and skin in Grey horses. *PLoS Genet.* 9(2), e1003248

- CURLING A. (2011) Equine Recurrent Uveitis: Classification, Etiology, and Pathogenesis. *Compendium: Continuing Education For Veterinarians* June 2011
- DRUML T., GRILZ-SEGER G., NEUDITSCHKO M., NEUHAUSER B., BREM G. (2017) Phenotypic and Genetic Analysis of the Leopard Complex Spotting in Noriker Horses. *J. Hered.* 108(5), 505-514
- DRUML T., GRILZ-SEGER G., NEUDITSCHKO M., *et al.* (2018) Novel insights into Sabino1 and splashed white coat color patterns in horses. *Anim. Genet.*
- DÜRIG N., JUDE R., HOLL H., *et al.* (2017) Whole genome sequencing reveals a novel deletion variant in the KIT gene in horses with white spotted coat colour phenotypes. *Anim. Genet.* 48(4), 483-485
- DÜRIG Nicole, JUDE R., JAGANNATHAN V., LEEB T. (2017) A novel MITF variant in a white American Standardbred foal. *Animal Genetics* 48(1), 123-124
- EWART S.L., RAMSEY D.T., XU J., MEYERS D. (2000) The horse homolog of congenital aniridia conforms to codominant inheritance. *Journal of Heredity* 91, 93-98
- FANELLI H.H. (2005) Coat colour dilution lethal ('lavender foal syndrome'): a tetany syndrome of Arabian foals. *Equine Veterinary Education* 17((5)), 260-263
- FRITZ K.L., KAESE H.J., VALBERG S.J., *et al.* (2014) Genetic risk factors for insidious equine recurrent uveitis in Appaloosa horses. *Animal Genetics* 45(3), 292-299
- GILGER B.C. (2011) Equine Ophtalmology, 2nd Edition, Wiley BlackWell. ed. Wiley BlackWell
- GILGER B.C. (2016) Equine Ophtalmology, 3rd Edition, Wiley BlackWell. ed. Wiley BlackWell
- GRAHN B.H., PINARD C., ARCHER S., *et al.* (2008) Congenital ocular anomalies in purebred and crossbred Rocky and Kentucky Mountain horses in Canada. *Can. Vet. J.* 49(7), 675-681
- HAASE B., BROOKS S.A., SCHLUMBAUM A., *et al.* (2007) Allelic heterogeneity at the equine KIT locus in dominant white (W) horses. *PLoS Genet.* 3(11), e195
- HAASE B., JUDE R., BROOKS S.A., LEEB T. (2008) An equine chromosome 3 inversion is associated with the tobiano spotting pattern in German horse breeds. *Animal Genetics* 39(3), 306-309
- HAASE B., BROOKS S.A., TOZAKI T., *et al.* (2009) Seven novel KIT mutations in horses with white coat colour phenotypes. *Anim. Genet.* 40(5), 623-629
- HAASE B., OBEXER-RUFF G., DOLF G., *et al.* (2010) Haematological parameters are normal in dominant white Franches-Montagnes horses carrying a KIT mutation. *Vet. J.* 184(3), 315-317
- HAASE B., RIEDER S., TOZAKI T., *et al.* (2011a) Five novel KIT mutations in horses with white coat colour phenotypes. *Anim. Genet.* 42(3), 337-339
- HAASE B., RIEDER S., TOZAKI T., *et al.* (2011b) Five novel KIT mutations in horses with white coat colour phenotypes. *Animal Genetics* 42(3), 337-339
- HAASE B., JAGANNATHAN V., RIEDER S., LEEB T. (2015) A novel KIT variant in an Icelandic horse with white-spotted coat colour. *Anim. Genet.* 46(4), 466

- HARLAND M.M., STEWART A.J., MARSHALL A.E., BELKNAP E.B. (2006) Diagnosis of deafness in a horse by brainstem auditory evoked potential. *Can Vet J* 47(2), 151-154
- HAUSWIRTH R., HAASE B., BLATTER M., *et al.* (2012) Mutations in MITF and PAX3 cause « splashed white » and other white spotting phenotypes in horses. *PLoS Genet.* 8(4), e1002653
- HAUSWIRTH R., JUDE R., HAASE B., *et al.* (2013) Novel variants in the KIT and PAX3 genes in horses with white-spotted coat colour phenotypes. *Anim. Genet.* 44(6), 763-765
- HOBAN R., CASTLE K., HAMILTON N., HAASE B. (2018a) Novel KIT variants for dominant white in the Australian horse population. *Anim. Genet.* 49(1), 99-100
- HOBAN R., CASTLE K., HAMILTON N., HAASE B. (2018b) Novel KIT variants for dominant white in the Australian horse population. *Animal Genetics* 49(1), 99-100
- HOLL H., BROOKS S., BAILEY E. (2010) De novo mutation of KIT discovered as a result of a non-hereditary white coat colour pattern. *Animal Genetics* 41(s2), 196-198
- HOLL H.M., BROOKS S.A., ARCHER S., *et al.* (2016) Variant in the RFWD3 gene associated with PATN1, a modifier of leopard complex spotting. *Animal Genetics* 47(1), 91-101
- HOLL H.M., BROOKS S.A., CARPENTER M.L., BUSTAMANTE C.D., LAFAYETTE C. (2017) A novel splice mutation within equine KIT and the W15 allele in the homozygous state lead to all white coat color phenotypes. *Anim. Genet.* 48(4), 497-498
- HUG P., JUDE R., HENKEL J., JAGANNATHAN V., LEEB T. (2019) A novel KIT deletion variant in a German Riding Pony with white-spotting coat colour phenotype. *Anim. Genet.*
- IMSLAND F., MCGOWAN K., RUBIN C.-J., *et al.* (2016) Regulatory mutations in TBX3 disrupt asymmetric hair pigmentation that underlies Dun camouflage color in horses. *Nat. Genet.* 48(2), 152-158
- JOHANSSON M.K., JÄDERKVIST FEGRAEUS K., LINDGREN G., EKESTEN B. (2017) The refractive state of the eye in Icelandic horses with the Silver mutation. *BMC Vet. Res.* 13(1), 153
- KOMÁROMY A.M., ROWLAN J.S., LA CROIX N.C., MANGAN B.G. (2011) Equine Multiple Congenital Ocular Anomalies (MCOA) syndrome in PMEL17 (Silver) mutant ponies: five cases. *Vet Ophthalmol* 14(5), 313-320
- KONDO T., HEARING V.J. (2011) Update on the regulation of mammalian melanocyte function and skin pigmentation. *Expert Rev Dermatol* 6(1), 97-108
- LIGHTBODY T. (2002) Foal with Overo lethal white syndrome born to a registered quarter horse mare. *Can Vet J* 43(9), 715-717
- LU D., WILLARD D., PATEL I.R., *et al.* (1994) Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating-hormone receptor. *Nature* 371(6500), 799-802
- MAGDESIAN K.G., WILLIAMS D.C., ALEMAN M., LECOUEUR R.A., MADIGAN J.E. (2009) Evaluation of deafness in American Paint Horses by phenotype, brainstem auditory-evoked responses, and endothelin receptor B genotype. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 235(10), 1204-1211

- MARIAT D., TAOURIT S., GUÉRIN G. (2003) A mutation in the MATP gene causes the cream coat colour in the horse. *Genet. Sel. Evol.* 35(1), 119-133
- MCCABE L., GRIFFIN L.D., KINZER A., *et al.* (1990) Overo lethal white foal syndrome: Equine model of aganglionic megacolon (Hirschsprung disease). In *American Journal of Medical Genetics*. [<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajmg.1320360319>] (consulté le 09/07/2019).
- 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(6), 426-431
- MOORE J.S., SHAW C., SHAW E., *et al.* (2013) Melanoma in horses: Current perspectives. *Equine Veterinary Education* 25(3), 144-151
- MORT R.L., JACKSON I.J., PATTON E.E. (2015) The melanocyte lineage in development and disease. *Development* 142(4), 620-632
- PAGE P., PARKER R., HARPER C., GUTHRIE A., NESER J. (2006) Clinical, clinicopathologic, postmortem examination findings and familial history of 3 Arabians with lavender foal syndrome. *J. Vet. Intern. Med.* 20(6), 1491-1494
- PASHKOVA N., CATLETT N.L., NOVAK J.L., *et al.* (2005) Myosin V attachment to cargo requires the tight association of two functional subdomains. *The Journal of Cell Biology* 168(3), 359-364
- PIELBERG G., GOLOVKO A., SUNDSTRÖM E., *et al.* (2008) A cis-acting regulatory mutation causes premature hair graying and susceptibility to melanoma in the horse. *Nature Genetics* 40(8), 1004-1009
- PRUVOST M., BELLONE Rebecca BENECKE N., *et al.* (2011) Genotypes of predomestic horses match phenotypes painted in Paleolithic works of cave art. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(46), 18626-18630
- RIGAUDIERE F., LE GARGASSON J-F. (2013) III-2 : la neurorétine : aspects fonctionnels, *Oeil et physiologie de la vision* [En ligne], URL : <http://odel.irevues.inist.fr/oeiletpysiologiedelavision/index.php?id=215>
- RAMSEY D.T., EWART S.L., RENDER J.A., COOK C.S., LATIMER C.A. (1999) Congenital ocular abnormalities of Rocky Mountain Horses. *Vet Ophthalmol* 2(1), 47-59
- REED S. M., BAYLY W. M., SELLON D. C. (2018) *Equine Internal Medicine*, 4th Edition, Elsevier. ed. Elsevier Saunders
- REISSMANN M., BIERWOLF J., BROCKMANN G.A. (2007) Two SNPs in the SILV gene are associated with silver coat colour in ponies. *Anim. Genet.* 38(1), 1-6
- RENDON F., IRIONDO M., MANZANO C., ESTONBA A. (2009) Identification of horse chestnut coat color genotype using SNaPshot. *BMC Res Notes* 2, 255
- RIEDER S., TAOURIT S., MARIAT D., LANGLOIS B., GUÉRIN G. (2001) Mutations in the agouti (ASIP), the extension (MC1R), and the brown (TYRP1) loci and their association to coat color phenotypes in horses (*Equus caballus*). *Mamm. Genome* 12(6), 450-455

- RIEDER S., HAGGER C., OBEXER-RUFF G., LEEB T., PONCET P.-A. (2008) Genetic Analysis of White Facial and Leg Markings in the Swiss Franches-Montagnes Horse Breed. *J Hered* 99(2), 130-136
- ROBBINS L.S., NADEAU J.H., JOHNSON K.R., *et al.* (1993) Pigmentation phenotypes of variant extension locus alleles result from point mutations that alter MSH receptor function. *Cell* 72(6), 827-834
- ROSENGREN PIELBERG G., GOLOVKO A., SUNDSTRÖM E., *et al.* (2008) A cis-acting regulatory mutation causes premature hair graying and susceptibility to melanoma in the horse. *Nat. Genet.* 40(8), 1004-1009
- ROYDON PRICE E., FISHER D. (2001) Sensorineural Deafness and Pigmentation Genes. *Neuron* 30, 15-18
- 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. *Vet Ophthalmol* 10(6), 368-375
- SANDMEYER L.S., BELLONE R.R., ARCHER S., *et al.* (2012) Congenital stationary night blindness is associated with the leopard complex in the Miniature Horse. *Vet Ophthalmol* 15(1), 18-22
- SANTSCHI E.M., PURDY A.K., VALBERG S.J., *et al.* (1998) Endothelin receptor B polymorphism associated with lethal white foal syndrome in horses. *Mamm. Genome* 9(4), 306-309
- SANTSCHI E.M., VROTSOS P.D., PURDY A.K., MICKELSON J.R. (2001) Incidence of the endothelin receptor B mutation that causes lethal white foal syndrome in white-patterned horses. *Am. J. Vet. Res.* 62(1), 97-103
- SCOTT D.W., MILLER W.H. (2011) Equine Dermatology, 2nd Edition, Elsevier. ed. Elsevier Saunders
- SÉGARD E.M., DEPECKER M.C., LANG J., GEMPERLI A., CADORÉ J.-L. (2013) Ultrasonographic features of PMEL17 (Silver) mutant gene-associated multiple congenital ocular anomalies (MCOA) in Comtois and Rocky Mountain horses. *Vet Ophthalmol* 16(6), 429-435
- SIRE IFCE (2019) Guide Identificateur 2019. In www.ifce.fr. [<https://www.ifce.fr/wp-content/uploads/2019/03/SIRE-Guide-identificateur2019.pdf>]
- SPONENBERG D.P., CARR G., SIMAK E., SCHWINK K. (1990) The inheritance of the leopard complex of spotting patterns in horses. *J. Hered.* 81(4), 323-331
- SPONENBERG P., BELLONE R. (2017) Equine Color Genetics, Fourth Edition. Wiley-BlackWell
- STEEL K.P., BARKWAY C. (1989) Another role for melanocytes: their importance for normal stria vascularis development in the mammalian inner ear. *Development* 107(3), 453-463
- SUNDSTRÖM E., IMSLAND F., MIKKO S., *et al.* (2012) Copy number expansion of the STX17 duplication in melanoma tissue from Grey horses. *BMC Genomics* 13, 365
- VONDERFECHT S.L., BOWLING A.T., COHEN M. (1983) Congenital Intestinal Aganglionosis in White Foals. *Vet Pathol* 20(1), 65-70

- WADE C.M., GIULOTTO E., SIGURDSSON S., *et al.* (2009) Genome Sequence, Comparative Analysis, and Population Genetics of the Domestic Horse. *Science* 326(5954), 865-867
- WAGNER H.-J., REISSMANN M. (2000) New polymorphism detected in the horse MC1R gene. *Animal Genetics* 31(4), 289-290
- WATT B., TENZA D., LEMMON M.A., *et al.* (2011) Mutations in or near the transmembrane domain alter PMEL amyloid formation from functional to pathogenic. *PLoS Genet.* 7(9), e1002286
- WUTKE S., BENECKE N., SANDOVAL-CASTELLANOS E., *et al.* (2016) Spotted phenotypes in horses lost attractiveness in the Middle Ages. *Sci Rep* 6
- ZEITZ C., ROBSON A. G., AUDO I. (2015) Congenital stationary night blindness: An analysis and update of genotype-phenotype correlations and pathogenic mechanisms. *Progress in Retinal and Eye research*, 45, 58-110

DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE DES ROBES DU CHEVAL ET MALADIES ASSOCIÉES

AUTEUR : Jennifer REY

RÉSUMÉ :

Le cheval est une espèce présentant une riche diversité phénotypique en termes de couleurs de robes. Deux gènes fondamentaux déterminent les trois robes de bases : alezan, noir et bai. Les autres robes résultent d'une combinaison de dilution(s) et ou de panachure(s) ajoutées à ces robes de bases. Les dilutions sont dues à des mutations sur des gènes codant pour des protéines de régulation du développement et de maturation des mélanosomes (comme le *Silver* par exemple), d'homéostasie du mélanosome et de transport des pigments (comme *Cream*, Champagne, Lavande) ou de répartition des mélanocytes pilaires (*Dun* par exemple). Certains gènes impliqués dans la couleur de robe, comme celui à l'origine de la dilution *Mushroom*, restent inconnus à ce jour. Les panachures sont causées par des mutations sur des gènes essentiels au développement mélanocytaire qui a lieu lors du développement embryonnaire et/ou essentiels à la survie des mélanocytes différenciés et des mélanocytes souches (Tobiano, Rouan, *Dominant White*, Sabino, *Splashed white*, *Frame overo* et Complexe Léopard).

Certaines de ces robes sont associées à des maladies. En effet, certaines mutations présentent ce qu'on appelle un effet pléiotrope. Ainsi certaines mutations entraînent une robe particulière et une affection spécifique : la robe *silver* et le syndrome d'anomalies congénitales oculaires multiples (MCOA), la robe Lavande et le Syndrome du poulain Lavande, la robe grise et le mélanome et le vitiligo, la robe blanche et la létalité embryonnaire, le pattern *frame overo* et le syndrome du poulain overo blanc léthal (OLWS), le pattern *splashed white* et surdité voire létalité embryonnaire, le complexe léopard et la cécité nocturne congénitale non évolutive (CSNB) et l'uvéite récurrente (URE).

La prévention de ces maladies héréditaires nécessite de raisonner les accouplements. L'utilisation des tests génétiques est une aide précieuse voire indispensable afin de dépister les porteurs des allèles mutés récessifs. Les tests génétiques sont également nécessaires à l'identification précise de certaines robes diluées et/ou avec panachure, car les phénotypes sont très proches et peuvent se superposer.

MOTS CLÉS : ROBE ; COULEUR ; PHÉNOTYPE ; GÉNÉTIQUE ; MALADIE ; PRÉVENTION ; ACCOUPLEMENT ; TEST GÉNÉTIQUE ; ÉQUIDÉ ; CHEVAL

JURY

Président : Pr Frédéric COCHENNEC-PALIWODA

1^{er} Assesseur : Dr Lucie CHEVALLIER

2nd Assesseur : Pr Bénédicte GRIMARD-BALLIF

GENETIC OF EQUINE COLORS AND ASSOCIATED DISEASES

AUTHOR: Jennifer REY

SUMMARY:

The horse has a large variability of colors. Two fundamental genes cause the three basic colors: chestnut, black and bay. All the other colors result from combinations of dilutions and white patterns over the basic colors. Dilutions are explained by mutations on genes coding for regulatory proteins of melanosomal development and maturation (such as silver), melanosomal homeostasis (cream, champagne, lavender for example) or melanocytes repartition in hair (dun for example). Some genes involved in horse coat color remain unknown (such as the one(s) causing mushroom dilution). White patterns result from mutations on fundamental genes for melanocytes development during embryonal development and/or fundamental to melanocytes and melanocyte stem cells survival (tobiano, roan, dominant white, sabino, splashed white, frame overo, complex leopard).

Some colors are associated to diseases. Indeed, some mutations have a pleiotropic effect and cause both a specific color and disease: silver and multiple congenital ocular affections (MCOA), lavender and lavender foal syndrome, gray and melanoma and vitiligo, dominant white and embryonal lethality, frame overo and overo lethal white syndrome, splashed white and deafness and embryonic lethality, complex leopard and congenital stationary night blindness and equine recurrent uveitis (URE).

A reasoned reproduction prevents from these hereditary affections, using genetic tests is a very precious help to detect carriers of mutated alleles. Genetics tests are necessary to establish a precise identification of some diluted and/or white patterned horse colors because some phenotypes are very close and can overlap.

KEYWORDS: COLOR; COAT; PHENOTYPE; GENETIC; DISEASE; PREVENTION; MATING; GENETIC TEST; EQUINE; HORSE.

JURY

Chairperson: Pr Frédéric COCHENNEC-PALIWODA

1st Assessor: Dr Lucie CHEVALLIER

2nd Assessor: Pr Bénédicte GRIMARD-BALLIF