



Progresivní degenerace tyčinek a čípků (prcd) patří do skupiny dědičných onemocnění sítnice souhrnně označovaných jako generalizovaná progresivní retinální atrofie (gPRA). Frekvence výskytu gPRA je u některých plemen psů poměrně vysoká a její dopad na zdraví resp. kvalitu života postižených jedinců je značný. Proto se stala předmětem intenzivního studia veterinárních lékařů a genetiků.

Odhalení genetické příčiny progresivní degenerace tyčinek a čípků

Progresivní degenerace tyčinek a čípků byla poprvé popsána v 70. letech minulého století u trpasličích a toy pudlů. Onemocnění vykazuje mendelistickou dědičnost s autozomálně recesivním způsobem dědičnosti. To znamená, že propuknutí nemoci je podmíněno změnami v jednom jediném genu, není ovlivněno zevním prostředím (strava, ustájení, pracovní zatížení apod.) a jedinec je postižen pouze v případě, že zdědí poškozenou alelu (jedinečná varianta genu) od každého z rodičů. Postupně bylo identifikováno onemocnění, které svými příznaky a průběhem připomínalo progresivní degeneraci tyčinek a čípků, i u dalších plemen - anglic-

ký kokršpaněl, americký kokršpaněl, portugalský vodní pes, labradorský retrívr, chesapeake bay retrívr, eskymácký pes, australský honácký pes a papilon. Nebylo však jasné, zda se jedná pouze o náhodnou podobnost příznaků, nebo zda jsou uvedená plemena skutečně postižena identickým onemocněním způsobeným shodnou genetickou příčinou. Pomocí experimentálního páření postižených a zdravých jedinců bylo posléze ověřeno, že u plemen trpasličí a toy pudl, anglický kokršpaněl, americký kokršpaněl a portugalský vodní pes je před zapříčiněno mutací stejného genu. Průběh onemocnění je typický pro tzv. pozdní formy gPRA. Je všeobecně známo,

že štěňata se rodí slepá. K rozleповání očních víček pak dochází v závislosti na plemeni mezi 10. až 16. dnem života. Avšak vývoj fotoreceptorů (tyčinek a čípků) ještě zdaleka není dokončen a pokračuje až do 60. až 70. dne po narození. U jedinců postižených před probíhá zpočátku vývoj fotoreceptorů normálně. Avšak již ve věku 15 týdnů dochází ke snížení obnovy zevního segmentu tyčinek. Degenerativní proces se postupně rozšiřuje i na jejich ostatní části. V menší míře se též objevují strukturální změny čípků. Stupeň degenerace není ve všech oblastech sítnice stejný, ale postupuje od její centrální části k okrajům. V pokročilém stadiu nemoci se degenerace fotorecepto-

„Případ progresivní degenerace tyčinek a čípků a mutace v genu PRCD se jeví jako průlom.“

rů na periférii sítnice zrychluje a její změny jsou více nápadné.

Příznakem onemocnění jsou také typické změny elektrického potenciálu sítnice při vyšetření pomocí elektroretinografu (ERG), které je možno zaznamenat již v časném stadiu (v rozmezí 9. až 15. měsíce).

Postupný rozvoj onemocnění se sebou nese další morfologické a funkční změny očních struktur, jako je ztenčení sítnice, pigmentace tapetum lucidum, zeslabování až vymizení očních cév, atrofie optického nervu a zpomalení až vyhasnutí pupilárního reflexu. V konečné fázi nemoci dochází k postupné ztrátě schopnosti vidění ve zhoršených světelných podmínkách - šeroslepost (nyktalopie). Postižený jedinec má nejistou chůzi, naráží do předmětů (zejména pokud byly například v bytě přemístěny), nadměrně používá čich při pohybu a vykazuje zvýšenou lekavost. Ačkoli by se snad majitelům mohlo zdát, že je nemožné tak zjevný defekt, jakým šeroslepost je, u svého psa přehlédnout, opak je pravdou. Pokud se postižený jedinec pohybuje pouze v jemu známém prostředí (byt, dvůr), je schopen se s postupnou ztrátou zraku do jisté míry vyrovnat. Méně pozornému kynologovi tak mohou obtíže jeho psa snadno uniknout.

Časový průběh onemocnění a závažnost poškození očních struktur vykazuje rozdílnosti jak mezi plemeny navzájem, tak mezi jedinci uvnitř plemen. Například u anglických kokršpanělů se ve srovnání s pudly onemocnění projevuje ve vyšším věku, rozvíjí se pomaleji a je méně destruktivní. I v pozdním stadiu nemoci je možno u anglických kokršpanělů na sítnici nalézt roztroušené ostrůvky nepoškozených fotoreceptorů.

V případech jedinců, u kterých onemocnění propuklo v nižším věku, je jeho průběh rychlejší ve srovnání s těmi, u nichž se choroba objevila později.

Z výše uvedeného je zřejmé, že se jednot-

livá plemena nutně liší i věkem, ve kterém je možno onemocnění diagnostikovat na základě změn elektroretinogramu nebo oftalmoskopickým vyšetřením očního pozadí. Pomocí ERG je možno před odhalit u trpasličích pudlů, toy pudlů a amerických kokršpanělů od stáří 9 měsíců, u labradorských retrievrů a portugalských vodních psů v jednom a půl roce a u anglických kokršpanělů dokonce až ve 2 až 3 letech. Oftalmoskopicky rozeznatelné změny sítnice se objevují u trpasličích pudlů, toy pudlů, portugalských vodních psů a labradorských retrievrů ve 3 až 6 letech, u amerických kokršpanělů ve 2,5 až 3 letech a u anglických kokršpanělů opět nejpozději - ve věku 3 až 8 let.

Onemocnění postihuje obě oči. I když změny na sítnici jednoho oka nemusí být v počátečních stádiích nemoci tak zřetelné, jako je tomu u oka druhého, s postupným rozvojem nemoci se rozsah poškození obou očí vyrovnává.

Na identifikaci genetické příčiny progresivní degenerace tyčinek a čípků bylo vynaloženo velké úsilí, které sice přinášelo dílčí úspěchy, ale příčinný gen zůstával dlouhou dobu neznámý. Prvním krokem k dosažení cíle bylo zjištění, že hledaný gen je umístěn na devátém psím chro-

mozomu. To umožnilo soustředit pozornost pouze na tuto specifickou část psího genomu. Následně byly na uvedeném chromozomu nalezeny specifické struktury - mikrosatelity, které sice samy o sobě nejsou příčinou propuknutí nemoci, ale nacházejí se v blízkosti kauzálního genu a spolu s ním jsou přenášeny z rodičů na potomky. Mezi mikrosatelity a geny tedy existuje genetická vazba a na základě jejího posouzení je možno s určitou pravděpodobností odhadnout i vnitřní strukturu blízkého genu. Zmíněný princip je podstatou tzv. velkých genetických testů. Jejich velkou nevýhodou je však skutečnost, že nemožňují identifikovat příčinnou mutaci, ale pouze mikrosatelity v jejich okolí. Tyto se však mezi různými populacemi (plemeny, rodinami) psů mohou navzájem lišit, což může vyústit ve zkreslení výsledku testu. Proto je nezbytné při jejich aplikaci zachovávat určitou opatrnost.

Na výše uvedené je však již možno hledět pouze jako na zajímavou kapitolu historie psí genetiky, neboť v loňském roce byl odhalen gen nesoucí příčinnou mutaci pro prcd u celé řady psích plemen. Je pozoruhodné, že uvedený gen nebyl dosud znám u žádného živočišného druhu včetně člověka! Podle prokázané souvislosti s progresivní degenerací tyčinek a čípků prcd byl pojmenován jako gen PRCD. Při jeho podrobné analýze bylo objeveno, že struktura genu zdravých a nemocných jedinců se mezi sebou navzájem liší v pátém nukleotidu (základní stavební jednotka genu). Zdravá alela na tomto místě nese guanin (G), poškozená pak adenin (A). Protože alely slouží jako předlohy pro syntézu proteinů během života jedince, přenáší se strukturní odlišnost i na ně. Zdravá alela dává vzniknout plně funkčnímu proteinu, avšak v případě poškozené alely je vytvářen protein nefunkční. O úloze proteinu PRCD v organismu a mechanismu jeho působení při vzniku patologických pro-

Nový objev

cesů v sítnici ještě není nic známo. Rozsáhlým ověřováním bylo prokázáno, že výše popsaná mutace je příčinou progresivní degenerace tyčinek a čípků nejen u původně sledovaných plemen, jako jsou pudlí a američtí nebo angličtí kokršpanělé, ale i u mnoha dalších, u kterých dosud chyběly hodnověrné informace. Dosud tedy byla uvedena mutace objevena celkem u 18 plemen psů - australský honácký pes, americký kokršpaněl, eskymácký pes, chesapeake bay retrívr, čínský chocholatý pes, anglický kokršpaněl, entlebušský salašnický pes, laponský pes, lapinkoira, kuvasz, lapinporokoira, labradorský retrívr, trpasličí pudl, toy pudl, Nova Scotia duck tolling retrívr, portugalský vodní pes, australský silky teriér a australian stumpy tail cattle dog.

Nalezená příčinná mutace je snadno stanovitelná běžnými molekulárně-genetickými metodami, které jsou však v tomto případě proti volnému komerčnímu využití patentově chráněny. Držitelem mezinárodního patentu je firma OptiGen ze Spojených států amerických (www.optigen.com). Ta také ve svých laboratořích provádí komerční testování, jehož inzerovaná cena činí 195 \$ za každého jedince. V uvedeném případě, kdy se laboratorními metodami analyzuje přímo příčinná mutace, mluvíme o tzv. mutačním genetickém testu. Nabízí se otázka, co je vlastně možno pomocí mutačního genetického testu zjistit, jaké jsou jeho výhody a nevýhody (zejména ve srovnání s oftalmologickým vyšetřením sítnice), a co testy přinesou pro zlepšení genetického zdraví chovaných psů?

Výsledkem mutačního genetického testu je určení genotypu - tedy dvojice alel, které má daný jedinec v genu PRCO. Jedinec může mít obě alely zdravé (genotyp GG), nebo jednu zdravou a jednu defektní (AG), či obě defektní (genotyp AA). Největší radost může mít majitel psa s genotypem GG, protože takový jedinec nejenže nebude postižen před, ale nebude ani přenášet vlohly pro toto onemocnění na své potomstvo. V případě psů s genotypem AG se jedná o tzv. přenašeče - jedinci jsou sice klinicky zdraví, ale vlohly pro před předávají na část svého potomstva (tab. 1). Nejhorší prognóza platí pro psy s genotypem AA - onemocnění u nich s určitostí propukne, a navíc v případě jejich uplatnění v plemenitbě budou defektní vlohly přenášet na veškeré své potomky.

Na základě klinického vyšetření můžeme rozdělit jedince do dvou kategorií - na zdravé a nemocné. Protože se v případě před jedná o znak s autozomálně recesiv-



ní dědičnosti, nelze pomocí oftalmologické prohlídky ve skupině klinicky zdravých jedinců identifikovat přenašeče. Tito jedinci jsou z chovatelského hlediska nejvíce riziková, protože jsou sice klinicky zdraví, ale defektní alelu dále přenášejí na potomstvo. Při páření dvou takových jedinců se ve vrhu objeví 25 procent postižených jedinců a 50 procent přenašečů (tab. 1), což dále neúměrně zvyšuje genetickou zátěž populace.

Mezi výhody genetických testů patří rovněž skutečnost, že jejich výsledek je jednoznačný a není potřebné je během života psa opakovat. Nesporným pozitivem je také možnost otestovat jedince již v raném období života (například již jako štěňata) ještě před objevením se klinických příznaků. To je přínosné právě u progresivních retinálních atrofií s pozdějším nástupem, jako je před. Stanovení diagnózy na základě oftalmologického vyšetření je u postižených plemen možné až ve věku, kdy jsou jedinci již dávno „úspěšně“ využíváni v plemenitbě, což napomáhá dalšímu zvyšování výskytu defektní alely resp. postižených jedinců v populaci.

Jistou nevýhodou nebo snad lépe řečeno omezením je, že popsaná mutace v genu PRCO je zodpovědná pouze za jeden specifický typ PRA u výše vyjmenovaných osmnácti plemen psů. Příslušný genetic-

ký test tedy nelze aplikovat na ostatní plemena psů postižená některou z dalších forem progresivní retinální atrofie. Opačně také nelze test využít k odhalení těch typů PRA (popřípadě jiných dědičných onemocnění sítnice), které se sice vyskytují u některého z uvedených plemen, ale jsou svým původem odlišné od před jako například generalizovaná progresivní retinální atrofie u labradorských retrívrů. Objev genetické příčiny jednoho z nejrozšířenějších typů PRA, progresivní degenerace tyčinek a čípků, je bezesporu velkým přínosem pro zlepšování genetického zdraví u psů. Byl tedy učiněn první důležitý krok. Do budoucna však bude záležet především na přístupu a odpovědnosti kynologické veřejnosti, zda budou tyto nově získané poznatky prakticky využívány v chovatelské činnosti a tím náležitě zhodnoceny.

Závěrem si dovoluji uvést zajímavou skutečnost. Je všeobecně známo, že některá onemocnění vyskytující se u člověka mají svou obdobu u domácích druhů zvířat. Jedním z typických příkladů je právě progresivní retinální atrofie u psů a lidská retinitis pigmentosa (RP). Výsledky výzkumu genetických příčin a možností terapie těchto chorob jsou u obou druhů reciprocně využívány. V případě člověka bylo dosud popsáno několik desítek různých typů RP a identifikována celá řada příčinných genů. U psů bylo do dnešního dne popsáno šest genů způsobujících PRA a ve všech těchto případech tomu předcházelo právě objevení jejich kauzality v lidské retinitis pigmentosa.

Z tohoto pohledu se jeví jako průlom výše popsaný případ progresivní degenerace tyčinek a čípků a mutace v genu PRCO. Bylo prokázáno, že tento gen (dokonce naprosto stejná mutace), který byl prvně popsán u psů, je příčinou vzniku jedné z forem RP vyskytujících se u lidí v Bangladéši. Genetický výzkum u psů tedy jednoznačně přispěl k rozvoji poznání v humánní medicíně. Existuje snad vhodnější příklad, že pes je skutečně nejlepším přítelem člověka?! Pavel Horák

Tab. 1:

Výsledek páření rodičů s různým genotypem PRCO

Kombinace páření	Potomstvo
zdravý x zdravý	100 % zdravých
zdravý x přenašeč	50 % zdravých, 50 % přenašečů
přenašeč x přenašeč	25 % zdravých, 50 % přenašečů, 25 % postižených
přenašeč x postižený	50 % přenašečů, 50 % postižených
postižený x postižený	100 % postižených