

## Přehled nejčastěji vyskytujících genetických chorob plemene mops a jejich testování

1. Nekrotická meningoencefalitida .....	1
2. Degenerativní myelopatie .....	2
3. Maligní hypertermie .....	3
4. Deficit pyruvátkinázy .....	4
5. Primární luxace čočky (PLL – primary lens luxation) .....	5

### 1. Nekrotická meningoencefalitida

Přibližně 1,2 % mopsů umírá na nekrotizující meningoencefalitidu (NME), známou také jako PDE (Pug dog encephalitis). NME je **zánětlivé onemocnění centrálního nervového systému**, které je obvykle progresivní a fatální. Mezi příznaky NME patří záchvaty, deprese, ataxie, abnormální chůze a slepota. Psy mladší 7 let jsou více náchylné k rozvoji NME než starší jedinci. Některé studie popisují vyšší výskyt onemocnění u běžových fen mladších 7 let. Nedávný výzkum ukázal, že citlivost na NME je spojena s oblastí psího leukocytového antigenu (DLA) psího chromozomu 12. Asociace je v oblasti nebo blízko oblasti obsahující geny DLA třídy II. Psi, kteří mají v této oblasti dvě identické kopie značek spojených s NME, mají pozorované riziko (OR) 12,75krát vyšší pro rozvoj NME v průběhu jejich života a mopsi, kteří mají pouze jednu nebo žádnou kopii těchto značek mají pozorované riziko (OR) 0-1,08 pro rozvoj NME.

Výsledky testu NME jsou uváděny:

N/N	Žádné markery spojené s NME. Tito psi mají nízké riziko rozvoje NME.
N/S	1 kopie markerů spojených s NME. Tito psi mají nízké riziko rozvoje NME.
S/S	2 kopie markerů spojených s NME. U těchto psů je 12,75krát vyšší pravděpodobnost rozvoje NME za jejich života.

Výsledky křížení na základě výsledků testu NME:

1. N / N x N / N = Všechna štěňata budou mít dvě kopie markerů s nízkým rizikem NME (N / N) a během svého života budou mít výrazně snížené riziko rozvoje NME.
2. N / N x N / S = Jedna polovina štěňat bude mít dvě kopie markerů s nízkým rizikem NME (N / N) a bude mít výrazně snížené riziko rozvoje NME během jejich života. Druhá polovina štěňat bude mít jednu kopii markeru NME (N / S), ale bude mít také nízké riziko rozvoje NME.
3. N / S x N / S = Jedna čtvrtina štěňat bude N / N a s výrazně sníženým rozvojem NME; jedna polovina bude N / S, ale bude mít také nízké riziko rozvoje NME; jedna čtvrtina bude S / S a bude představovat vysoké riziko pro rozvoj NME.
4. N / S x S / S = Jedna polovina štěňat nese marker (N / S), ale nebude vystavena zvýšenému riziku NME; jedna polovina štěňat bude mít dvě kopie (S / S) a bude vystavena vysokému riziku NME.
5. N / N x S / S = Všechna štěňata budou mít jednu kopii (N / S) a budou mít nízké riziko rozvoje NME.
6. S / S x S / S = Všechna štěňata budou mít (S / S) a budou vystavena vysokému riziku NME.

Poznámky k testu:

Nejedná se o diagnostický test na NME u mopsů, nebo na onemocnění, nebo riziko NME u jiných plemen. **Test je určen pouze k určení rizika rozvoje NME u mopsů a výběru rodičovského páru, který bude produkovat štěňata se sníženým rizikem (N / N, N / S).** Ačkoli významná část (11 %) mopsů je S / S, pouze asi 1 z 8 z této skupiny bude postižena NME během svého života. Chovatelům se také nedoporučuje rozmnožovat genotyp S, protože 40 % mopsů má genotyp S v heterozygotním (N / S = 29 %) nebo homozygotním stavu (S / S = 11 %). Odstranění genotypu S povede ovšem ke značné ztrátě genetické rozmanitosti. Chovatelé by proto měli pečlivě vybírat rodičovský pár, které neprodukují štěňata S / S.

Zpráva NME z laboratoře USDAVIS obsahuje typy DNA pro panel 8 markerů vybraných z panelu rodičů psa dle International Society of Animal Genetics (ISAG). Tyto markery poskytují individuální identifikaci pro každý testovaný vzorek – pozor, pouze testování v laboratoři USDAVIS! Evropské laboratoře testují k dnešnímu dni pouze jeden marker.

## 2. Degenerativní myelopatie

Degenerativní myelopatie (DM) je **progresivním neurodegenerativním onemocněním**, které se zpravidla objevuje u široké škály psích plemen kolem osmého roku jejich života. V současnosti je známo již 124 plemen, která mohou být degenerativní myelopatií postižena (Zeng et al. 2014). Široká distribuce mutace mezi plemeny naznačuje původ již z dob, kdy plemena nebyla tak diverzifikovaná. U postižených psů dochází k postupnému nebolestivému slábnutí pánevních končetin, problémům s koordinací a chůzí, následuje atrofie svalstva, ataxie, inkontinence a vše končí úplným ochrnutím zadních končetin. Příznaky provázející toto onemocnění jsou tak závažného charakteru, že po 3–5 letech od prvního projevu nemoci dochází k úmrtí. Zpravidla však pes bývá přibližně rok od objevení prvních symptomů utracen.

Příčinou tohoto fatálního onemocnění je povětšinou mutace v genu superoxidismutáza 1 (SOD1) v jehož kódující oblasti dochází k záměně nukleotidu G za nukleotid A (c.118G> A; SOD1 A). Záměnou G za A v sekvenci genu vznikne nesmyslný kodon, díky němuž nedojde k řádnému přepisu genu a protein superoxidismutasa 1, který je kódován SOD1 genem, nevznikne.

DM je geneticky dědičnou autozomálně recesivní chorobou, a tudíž se projevuje u jedinců, kteří od obou svých rodičů získají mutovaný gen. Raritně se však toto onemocnění může projevit i u heterozygotů, i když s mnohem menší frekvencí výskytu. Existuje určité procento DM pozitivních psů, u kterých se za jejich života nedostavily příznaky DM. To lze vysvětlit buď úmrtím psů před propuknutím nemoci, nebo existencí modifikujících genů, které symptomy ovlivňují, environmentálními faktory nebo neúplnou penetrancí nemoci mezi pozitivními homozygoty.

Jelikož je klinickou diagnózu možno provést až posmrtně, představuje molekulárně genetická analýza výbornou metodu pro předčasné zjištění toho, zdali je u jedince riziko, že u něj myelopatie buď propukne, anebo ji, v případě své heterozygotnosti v tomto genu, předá do dalších generací. Kdy se objeví první příznaky a jak závažný bude celý průběh onemocnění, však tímto způsobem zjistit nelze.

DM se vyskytuje u psů obou pohlaví se stejnou frekvencí. Při výběru chovného páru nezáleží na tom, který z partnerů nese, který genotyp. Při výběru chovného páru je důležité se vyvarovat takové kombinace rodičů, kterým se mohou narodit DM geneticky pozitivní štěňata.

Zdravý jedinec = geneticky normální = Tested Genetically Normal = N/N = jedinec bez mutací, clear, DM free, negativní

Přenašeč, případně rizikový jedinec = Tested Genetically Carrier = N/P = heterozygot, který přenáší jednu mutovanou alelu SOD1 A

Postižený jedinec = Tested Genetically Affected = P/P = DM pozitivní, recesivní homozygot, který má dvě mutace v SOD1 A

Nedoporučuje se párovat následující genotypy pro DM:

genotypy rodičů	statistické zastoupení genotypů v potomstvu
P/P + P/P	všechna štěňata budou mít riziko rozvoje DM
P/P + N/P	50 % štěňat bude v riziku DM, 50 % štěňat bude DM mutaci přenášet na potomky
N/P + N/P	25 % potomků bude zdravých, 50 % potomků budou přenašeči DM a 25 % bude v riziku DM

Spojení, ze kterých se narodí DM pozitivní jedinci:

genotypy rodičů	statistické zastoupení genotypů v potomstvu
N/N + N/N	všechna štěňata budou DM zdravá
N/P + N/N	50 % štěňat bude zdravých a 50 % štěňat budou přenašeči DM
P/P + N/N	všechna štěňata budou přenašeči DM <sup>1</sup>

### 3. Maligní hypertermie

Maligní hypertermie (MH) představuje závažnou komplikaci při celkové anestezii, která může být až fatální. MH je **farmakogenetická choroba kosterního svalstva**, při které dochází k hyperkapii, tachykardii a hypertermii, které jsou vyvolány reakcí na chemické spouštěče – v tomto případě anestetika. Postižení psi nemají žádné klinické příznaky, dokud nejsou vystaveni vyvolávacím látkám. Maligní hypertermie byla popsána u lidí i různých druhů zvířat (např. koček, psů, koní, skotu, králíků).

U psů byla jako kauzální mutace nalezena substituce C za T, vedoucí k záměně aminokyseliny valinu za alanin v pozici 547 (p.Val547Ala). Mutace byla nalezena ve vysoce konzervované oblasti genu pro ryanodinový receptor (RYR1 gen) (Roberts et al. 2001). Ryanodinový receptor je součástí kalcium uvolňujícího kanálu v sarkoplazmatickém retikulu. V případě přítomnosti mutace v receptoru, dochází po kontaktu s vyvolávací látkou (trigerrsubstancí) k nekontrolovanému uvolnění Ca<sup>2+</sup> ze sarkoplazmatického retikula a poruše zpětného vychytání iontů. Následkem je prodloužení svalové kontrakce bez relaxace a následkem snahy vedoucí k odčerpání Ca<sup>2+</sup> jsou extrémní nároky na O<sub>2</sub>, nadprodukce CO<sub>2</sub> a tepla (hypertermie).

Psi s maligní hypertermií jsou zdraví, nevykazují klinické příznaky, dokud nejsou vystaveni spouštěčům. V případě celkové anestezie se objevují hyperkapnie, tachykardie a hypertermie. Pokud

<sup>1</sup> Často se nedoporučuje zařazovat do chovů psy nesoucí homozygotně mutaci (P/P). U plemen s malou genetickou základnou by mohlo vyřazení P/P jedinců z chovu závažně snížit genetickou různorodost populace. To by mohlo vést ke vzniku dalších jiných nežádoucích genetických zátěží plemene. Pro plemena s malou genetickou základnou populace se doporučuje zohledňovat při výběru chovného páru mimo jiné parametry také diverzitní koeficient, který umožní rozhodnout, ze kterého spojení vznikne geneticky různorodější potomstvo. Více informací najdete na [www.genomia.cz/cz/diverzita/](http://www.genomia.cz/cz/diverzita/)

není anestezie přerušena, příznaky mohou postupovat k arytmií, rabdomyolýze, selhání ledvin a smrti. Vyvolávajícími látkami jsou běžně používaná volatilní neboli prchavá anestetika (např. halotan, isofluran, sevofluran) a nepolarizující svalová relaxancia jako je sukcinylcholin (Roberts et al. 2001, Brunson et al. 2004).

Léčbu je nutné zahájit přerušáním anestezie. Chlazením organismu a podání antidotik, látek snižujících svalové napětí, např. dantrolen. Pro psi postižené MH je možné zvolit alternativní anestetika, důležitá je i premedikace, protože stres může být faktorem přispívajícím k rozvoji klinických příznaků (Brunson et al. 2004).

Dědičnost MH je autozomálně dominantní. Pouze jediná kopie mutovaného genu je dostačující pro vznik klinických příznaků. Mutace není vázána na konkrétní plemena (Brunson et al. 2004.) Vzhledem k tomu, že postižení jedinci jsou bez podání vyvolávajících látek zcela bez klinických příznaků, mohou někteří jedinci prožít celý život, aniž by byla během života stanovena diagnóza MH. V případě postiženého jedince je riziko přenosu postižení na potomka 50 %.

#### 4. Deficit pyruvátkinázy

Deficit pyruvátkinázy (PK Def.) způsobuje dědičné **hemolytické onemocnění**, které se vyskytuje nejen u psů, ale i u lidí a koček.

Pyruvát kináza je klíčový enzym v anaerobní glykolýze. Nedostatek enzymu vede k nedostatečné produkci ATP, následkem je lýza erytrocytů nebo jejich předčasná destrukce ve slezině. Zvýšený zánik erytrocytů se klinicky projeví jako anémie (chudokrevnost). Životnost červených krvinek u psů je přibližně jeden měsíc, v případě PK deficitu je životnost erytrocytů jen pár dní. Mezi doprovodné projevy deficitu PK patří celková slabost, zvýšená srdeční činnost, bledé sliznice, poruchy jaterních funkcí, hepatomegalie, splenomegalie, nesnášenlivost zátěže a hubnutí.

První klinické příznaky se obvykle objevují okolo 4 měsíců věku psa. Heterozygotní psi (přenašeči mutace) jsou obvykle asymptomatictí, i přesto, že mají poloviční hladiny pyruvát kinázové aktivity. Fyzicky neaktivní postižení jedinci vykazují pozdější nástup klinických příznaků.

Hematologická analýza obvykle odhalí závažnou anémii a vysokou koncentraci feritinu v séru. U některých psů se vyvíjejí další příznaky např. závažná sekundární hemochromatóza, progresivní myelofibróza a osteosklerózy kostní dřeně.

Vzhledem k tomu, že klinické příznaky mohou být lehce zaměnitelné s jinými metabolickými poruchami, je testování zodpovědných mutací u psích plemen vhodným řešením pro určení správné diagnózy způsobené deficitem PK.

Kauzální mutace v PK-LR genu byla poprvé popsána u plemene Basenji (Whitney 1995), později byly kauzální mutace objeveny i u dalších plemen u labradorského retrívra (c.799 C> T), mopse (c.848 T>C), bigla (c. 994G> A), Cairn teriéra a west highland white teriéra (6 bp inserce v exonu 10) (Gultekin 2012).

Hemolytické onemocnění způsobené deficitem pyruvát kinázy je autozomálně recesivní chorobu. To znamená, že se nemoc rozvine pouze u jedinců, kteří zdědí od obou svých rodičů mutovaný gen; tito jedinci se označují P/P (positivní / pozitivní). Přenašeči mutovaného genu (N/P, tzn. negativní / pozitivní) jsou klinicky zdraví, ale přenašejí nemoc na své potomky. V případě krytí dvou heterozygotních jedinců (N/P) bude teoreticky 25 % potomků zcela zdravých, 50 % potomků přenašečů a 25 % zdědí od obou rodičů mutovaný gen a budou postiženi deficitem pyruvátkinázy (P/P).

## 5. Primární luxace čočky (PLL – primary lens luxation)

Luxace čočky (luxatio lentis) je **oční vada spojená s dislokací čočky** vedoucí až k oslepnutí. PLL (OMIA 000588-9615: Lens luxation in Canis lupus familiaris) byla popsána u psů před více než 75 lety (Gray et al. 1932). PLL onemocnění lze srovnat s nově popsaným Weill-Marchesani-like syndromem u lidí, který má podobnou etiologii (Morales et al. 2009).

Čočka je v oku fixována vlákny závěsného aparátu, při jejich poškození dochází k dislokaci čočky z fossa hyaloidea (mělká jamka pro čočku v přední straně sklivce) do přední nebo zadní oční komory, popř. sklivce. Dislokace čočky může nastat i následkem úrazu. Dědičná forma je způsobena defektní fixací vláken čočky – uvolnění vláken způsobí posunutí čočky následkem je zelený oční zákal a ztráta zraku.

V souvislosti s dědičným onemocněním PLL byla identifikována donorová sestřihová mutace v ADAMTS17 genu, která byla prokázána jako kauzální (Farias et al. 2010). Gen ADAMTS17 se nachází na psím chromozomu 3 (CFA3). Sekvenací genu byla zjištěna mutace, která vytváří sestřihové místo na 5' konci intronu 10 (Farias et al. 2010). Gen ADAMTS 17 (ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif, 17) je jedním z 19 dosud známých savčích genů genové rodiny ADAMTS (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs), kódující metaloproteázy (Cal et al. 2002, Porter et al. 2005). Produkty této genové rodiny jsou potřebné pro normální růst a vývoj orgánů, jako jsou nadledvinky, ledviny, děloha, a srdce. Účastní se též patogeneze závažných lidských onemocnění včetně metastázuujících karcinomů a artritidy. Mutace nebo alelické varianty rozdílných ADAMTS genů jsou spojeny s rozmanitým souborem nemocí a fenotypů, např. Ehlers-Danlovým syndromem typu VIIC, WMS (Weill-Marchesani syndrome), osteoartritidou, osteoporózou, trombotickou trombocytopenickou purpurou a abnormální distribucí pigmentu.

Možné kombinace genotypů:

- homozygotních pro mutaci (genotyp A/A)
- přenašeči (genotyp A/G)
- bez mutace (genotyp G/G)

I přenašeči mutace A/G mohou mít zvýšené riziko onemocnění PLL, riziko záleží na konkrétním plemeni nebo genovém pozadí individuálního jedince (Farias et al. 2010).

V současné době nejsou dostupné frekvence genotypů a jednotlivých alel u všech plemen postižených PLL.

Genetický test odhalí pouze přítomnost nebo nepřítomnost donorové nestřihové mutace genu ADAMTS17, která je v současné době považována za příčinu PLL. Provedený test nevyločí možnost jiné formy PLL ani neumožní odhalit propuknutí choroby u případných přenašečů mutace.

Obecná dědičnost PLL je považována za autosomálně recesivní, proto většina přenašečů mutace ADAMTS17 v průběhu celého života neonemocní. Vzhledem ke zjištěným údajům studie malé procento přenašečů PLL onemocní, choroba se rozvine u 2-20 % přenašečů mutace (předpoklad se blíží spíše k dolní hranici rozsahu). Vzhledem k tomu, že nelze odhalit příčinu propuknutí choroby je doporučeno přenašeče v průběhu života sledovat a pravidelně oftalmologicky vyšetřovat (cca každých 6-12 měsíců od 2 let věku). Incidence přenašečů v rámci plemen může být vysoká, je doporučeno jedince s genotypem N/P (přenašeč mutace) v chovu krýt pouze jedincem s genotypem N/N (bez přítomnosti mutace).

U jedinců, u kterých byly zjištěny 2 kopie mutovaného genu (P/P), lze v průběhu života očekávat propuknutí PLL onemocnění. Doporučuje se sledování oftalmologem, aby klinické příznaky byly zachyceny co možná nejdříve.

#### **Použitá literatura:**

USDAVIS VETERINARY MEDICINE: VETERINARY GENETICS LABORATORY [online], c2020. Davis: Veterinary Genetics Laborator [cit. 2020-01-18]. Dostupné z: <https://www.vgl.ucdavis.edu/services/PDE.php>

Talarico LR, Schatzberg SJ. Idiopathic granulomatous and necrotising inflammatory disorders of the canine central nervous system: a review and future perspectives. *J Small Anim Pract* 2010; 51: 138–149.

Levine JM, Fosgate GT, Porter B et al. Epidemiology of necrotizing meningoencephalitis in Pug dogs. *J Vet Intern Med* 2008; 22: 961–968.

Greer KA, AK Wong, H Liu, TR Famula, NC Pedersen, A Ruhe, M Wallace and MW Neff. Necrotizing meningoencephalitis of Pug Dogs associates with dog leukocyte antigen class II and resembles acute variant forms of multiple sclerosis. *Tissue Antigens* 2010; 76:110-118.

*Genetika a serologické testy pro psy* [online], 2008-2019 [cit. 2020-01-18]. Dostupné z: <https://www.genomia.cz/cz/veterinari/psi/>

Zeng, R., et al. "Breed Distribution of SOD1 Alleles Previously Associated with Canine Degenerative Myelopathy." *Journal of Veterinary Internal Medicine* 28.2 (2014): 515-521.

Crisp, Matthew J., et al. "Canine degenerative myelopathy: biochemical characterization of superoxide dismutase 1 in the first naturally occurring non-human amyotrophic lateral sclerosis model." *Experimental neurology* 248 (2013): 1-9.

Pfahler, S., et al. "Degenerative myelopathy in a SOD1 compound heterozygous Bernese mountain dog." *Animal genetics* 45.2 (2014): 309-310.

Roberts, M.C., Mickelson, J.R., Patterson, E.E., Nelson, T.E., Armstrong, P.J., Brunson, D.B., Hogan, K. : Autosomal dominant canine malignant hyperthermia is caused by a mutation in the gene encoding the skeletal muscle calcium release channel (RYR1) *Anesthesiology* 95:716-725, 2001. Pubmed reference: 11575546.

Brunson, DB., Hogan, KJ.: Malignant hyperthermia: a syndrome not a disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 34:1419-33, 2004. Pubmed reference: 15474681. DOI: 10.1016/j.cvsm.2004.05.010.

Gultekin, G.I., Raj, K., Foureman, P., Lehman, S., Manhart, K., Abdulmalik, O., Giger, U.: Erythrocytic pyruvate kinase mutations causing hemolytic anemia, osteosclerosis, and secondary hemochromatosis in dogs. *J Vet Intern Med* 26:935-44, 2012. Pubmed reference: 22805166. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2012.00958.x.

Whitney, K.M., Lothrop, C.D.: Genetic test for pyruvate kinase deficiency of basenjis *Journal of the American Veterinary Medical Association* 207:918-921, 1995. Pubmed reference: 7559024.

Whitney, K.M., Goodman, S.A., Bailey, E.M., Lothrop, C.D.: The molecular basis of canine pyruvate kinase deficiency *Experimental Hematology* 22:866-874, 1994. Pubmed reference: 7520391.

Farias FH, Johnson GS, Taylor JF, Giuliano E, Katz ML, Sanders DN, Schnabel RD, McKay SD, Khan S, Gharahkhani P, O'Leary CA, Pettitt L, Forman OP, Bournnell M, McLaughlin B, Ahonen S, Lohi H, Hernandez-Merino E, Gould DJ, Sargan DR, Mellersh C.: An ADAMTS17 splice donor site mutation in dogs with primary lens luxation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010 Sep;51(9):4716-21.

Gould D, Pettitt L, McLaughlin B, Holmes N, Forman O, Thomas A, Ahonen S, Lohi H, O'Leary C, Sargan D, Mellersh C.: ADAMTS17 mutation associated with primary lens luxation is widespread among breeds. *Vet Ophthalmol.* 2011 Nov;14(6):378-84

Gray H. Some medical and surgical conditions in the dog. *Vet Rec.*1932;12:1-10.

Morales J, Al-Sharif L, Khalil DS, et al. Homozygous mutations in ADAMTS10 and ADAMTS17 cause lenticular myopia, ectopia lentis, glaucoma, spherophakia, and short stature. *Am J Hum Genet.* 2009; 85:558-568.

Cal S, Obaya AJ, Llamazares M, Garabaya C, Quesada V, Lo'pez-Otín C. Cloning, expression analysis, and structural characterization of seven novel human ADAMTSs, a family of metalloproteinases with disintegrin and thrombospondin-1 domains. *Gene.* 2002;283: 49-62.

Porter S, Clark IM, Kevorkian L, Edwards DR. The ADAMTS metalloproteinases. *Biochem J.* 2005; 386:15-27.

David R. Sargan, Louise Pettitt, Michael Squire, David J. Gould, Cathryn S. Mellersh: Mapping the Mutation Causing Lens Luxation in Several Terrier Breeds. 2007; 98 (5): 534-538