

## Dědičná a vrozená kožní onemocnění – genetický test

### Obecné informace ke genetickému testu

DNA-analýzou (synonyma: DNA-test, DNS-analýza, DNS-test, genová analýza nebo genest) se označují molekulárně biologické metody, které testují genetickou výbavu (DNA), s cílem stanovit různé genetické aspekty daného jedince (Wikipedia).

Zřetelným zlomem v molekulární biologické diagnostice byl rozvoj takzvané polymerázové řetězové reakce (PCR). V rámci klinické diagnostiky je PCR používána k detekci a analýze genů o známé sekvenci. S pomocí PCR je možné v reagenční zkumavce milionkrát namnožit zcela cíleně vybrané úseky DNA. Na základě specifity PCR se uskuteční zmnožení DNA jen tehdy, pokud se daná cílená sekvence DNA vůbec vyskytuje. Molekulární genetickou analýzou genetické výbavy mohou být například odhaleny mutace, které vedou ke geneticky podmíněným onemocněním. Potomek zdědí principiálně 50% dědičných vloh od matky a 50 % od otce. Které vnější znaky nebo onemocnění se u něj projeví, záleží na tom, jestli je daný znak nebo onemocnění dominantně nebo recesivně (skrytě) dědičné. Je-li znak dominantně dědičný, je nutná pouze dědičná vloh od otce nebo matky, aby se daný znak projevil. Stačí pouze vloh od jednoho z rodičů, aby byl potomek daným onemocněním / mutací postižen a za určitých okolností vykazoval také symptomy fenotypového projevu. U recesivního znaku jsou naproti tomu nutné dvě recesivní vloh, aby se daný znak projevil také fenotypově. Dědičné vloh mohou být testovány nezávisle na stáří zvířete. Identifikace klinicky zdravých nositelů genů umožní, v případě recesivně dědičných onemocnění, zodpovědnou selekci v chovu zvířat. Testovací metody, pomocí nichž lze

mutace odhalit, jsou sice náročné, ale vysoce spolehlivé. Z daného vzorku ( 1 ml EDTA-plné krve) je nejprve dědičný materiál- DNA-izolován. Dotyčný genetický úsek je poté v reagenční zkumavce pomocí polymerázové řetězové reakce milionkrát namnožen, takže se vyskytuje pro analýzu v dostatečně velkém množství. Genetická analýza se provádí pomocí různých metod jako je například sekvenování, real-time PCR nebo fragmentační analýza úseků. Principiálně vyplývají 3 různé možné výsledky:

- a.) Zvíře je s ohledem na dotyčné onemocnění geneticky zdravé (genotyp N/N). Jak od matky, tak od otce získané genetické vloh v souvislosti s odpovídající dědičnou nemocí nejsou v zmutovaném stavu. Na potomky budou předávány pouze normální geny.
- b.) Zvíře získalo od matky či od otce zmutované genetické vloh (genotyp N/mut). Je-li onemocnění autosomálně-recesivně dědičné, je jedinec zdravý. Je-li onemocnění autosomálně-dominantně dědičné, projeví se i zmutovaný gen fenotypově. V případě gonosomálně – recesivní dědičnosti onemocní pouze samčí jedinci, i v případě, vysktuje-li se pouze jedna kopie mutovaného genu, protože chybí kompenzující alela na chromozomu Y. V každém případě bude však mutovaný gen s 50% pravděpodobností dále předáván na následující potomky.

- c.) Zvíře je nemocné (genotyp mut/mut). Získalo jak zmutované dědičné vlohy od otce, tak také od matky. Onemocnění se projevuje klinicky a je předáváno na následující potomky.

V dermatologie existuje velké množství dědičných onemocnění, přičemž, pro některé z již prozkoumaných genetických mutací, byly etablovány odpovídající genetické testy. Zde se soustředíme na pár nejčastěji se vyskytujících onemocnění. Na závěr najdete také seznam důležitých internetových odkazů, vzácné dermatologické onemocnění, pro které již genetické testy existují a onemocnění, u kterých se již provádí výzkumy a v blízké budoucnosti lze snad očekávat možnost jejich genetického průkazu.

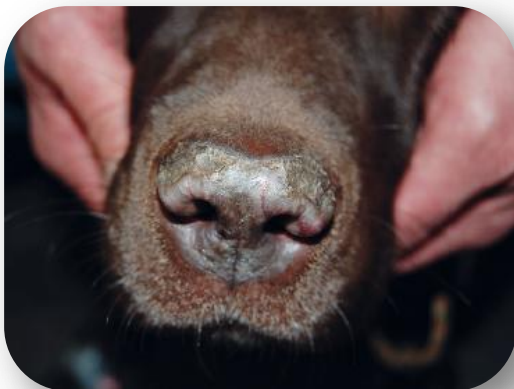
▪ **HNPK hereditární nasální parakeratóza**

**Plemeno:** Labradorský retrívr

**Dědičnost:** autosomálně recesivní

**Délka trvání testu:** 3-5 pracovních dnů po obdržení vzorku

**Materiál:** pro DNA-test je nezbytný 1 ml EDTA-plné krve. Alternativou je zaslání stěru z bukální sliznice.



V případě nasální parakeratózy se jedná o autosomálně recesivní genetický defekt Labradorských retrívrů (včetně jejich kríženců), který se projevuje tvorbou krust a fisur na vrchní straně nosní houby. Ve studii od Page a kol. (2003) byla u 6 z 10 psů zjištěna povrchová bakteriální infekce. U některých případů může být také pozorována depigmentace nosní houby. Postižení psi by měli být buď vyloučeni z chovu nebo párování pouze s negativními jedinci (genotyp N/N). V nejširším smyslu se jedná o pouze čistě kosmetický problém, které se však může stát, následkem sekundárních bakteriálních infekcí, vzniku fisur, bolestivým a krvácejícím, a tím pádem pro zvíře nepříjemným stavem. První symptomy se většinou objevují již u velmi mladých zvířat ve věku od 6 měsíců do 2 let. Postižení jsou psi obou pohlaví a všech barev srsti (běžová, černá, čokoládová). Klinicky se projevuje nasální parakeratóza nakupením šedého až hnědého keratinózního buněčného detritu na dorzálním nosním zrcátku. Zřídka se objevují také šupinaté, krustózní léze na nosním hřbetu nebo na prstních polštářcích. Většinou je však hyperkeratóza a depigmentace omezená pouze na Planum nasale. Postižení psi jsou jinak zdraví. Nejdůležitějšími diferenciálními diagnózami pro HNPK jsou Pemphigus erythematosus a foliaceus, systémový nebo diskoidní Lupus erythematosus, psinka, zinek responsivní dermatitida, Leishmanióza, metabolická epidermální nekróza (hepatokutánní syndrom), primární seborrheická dermatitida a idiopatická nasální hyperkeratóza (postihuje především starší psi, žádná plemenná predispozice) (Scott a kol., 2001).

Diagnóza je určena na základě anamnézy (eventuální postižení sourozenců z vrhu nebo rodičů), pomocí klinického obrazu a vyloučení ostatních diferenciálních diagnóz. Jistější stanovení diagnózy je možné pomocí dermatohistopatologického vyšetření a/nebo genetického testu.

Pro hereditární nasální parakeratózu (HNPK) zodpovědná mutace byla poprvé popsána pracovní skupinou Prof. Dr. Tosso Leeba na

univerzitě v Bernu. Jedná se přitom o mutaci v SUV39H2 genu, který řídí expresi specifického enzymu (Histon 3 Lysin 9 [H3K9] Methyltransferáza). Tento enzym se zásadně podílí na diferenciaci a vývoji keratinocytů. Studie provedená Jagannathem a kol., 2013 zjistila, že fenotyp HNPK není způsoben hyperproliferaací, ale změněnou a zpomalenou konečnou diferenciací keratinocytů. Kompletní obnovení keratinocytů v epidermis trvá u lidí běžně 40-56 dní a u psa přibližně 22 dní. V případě nazální hyperkeratózy jsou nalézány jádra keratinocytů ve Stratum corneum a nakupení proteinu-podobné tekutiny („serum lakes“). Naproti tomu u psa s fyziologickým procesem keratinizace se ve Stratum corneum nevyskytují už žádná jádra. Tyto jádra jsou viditelná u HNPK, společně s parakeratózou, také při histopatologickém vyšetření (Senter a kol., 2002). Neexistuje žádná specifická terapie. Lokální symptomatická léčba pomocí preparátů obsahujících vitamin E, vazelíny, propylenglykol- nebo kyselinu salicylovou obsahujících produktů může zlepšit odstranění suché kůry a vést ke zlepšení klinických příznaků. Jedná se přitom o doživotní péči. V případě výskytu sekundární bakteriální infekce by se měly nasadit lokální nebo systémová antibiotika. V jedné studii se klinický obraz onemocnění u dvou psů, kteří dostávali perorálně vysoké dávky prednisolonu (2 mg/kg 1 x denně) zlepšil o 85 %. U obou psů došlo po vysazení glukokortikoidů opět k recidivě (Peters a kol., 2003). 8 psů z této studie (Peters a kol., 2003) bylo, po obdržení pozitivních výsledků biopsie, léčeno lokální terapií směsí propylenglykolu a vody. Všichni pacienti vykazovali zlepšení klinického stavu (85-90 % zlepšení), ale u všech pacientů byla nutná doživotní léčba. Jeden pes uspokojivě reagoval na topické ošetřování bílou vazelínou, která byla aplikována 2x denně. Doposud nebyl zaznamenán případ spontánní remise bez použití léků. Bez ohledu na to, jaká konkrétní terapie byla zvolena, žádný psí nos nebyl uveden do 100 % normálního, případně původního stavu. Orální podávání antibiotik, zinku, vitaminu E, vitaminu A, omega-6/omega-3 mastných kyselin se také nesetkalo

s tak očekávaným efektem, jako je popsáno v předcházející studii od Page a kol. (2003). Page a kol. (2003) popsali 18 psů (14 Labradorských retrievrů, 4 kříženců Labradora) a jejich terapii. Psi nereagovali na perorální podávání zinkmethioninu (n=3), cefalexinu (n=4), retinolu (n=1) nebo lokální aplikaci tretionu (n=1). V této studii bylo dosaženo zlepšení lézí lokálním použitím vitaminu E (n=2), vazelíny (n=2) a propylenglykolu.

#### ▪ Ichtyóza

**Plemeno:** Zlatý retrievr

**Dědičnost:** autosomálně recesivní

**Doba trvání testu:** 1-2 týdny po obdržení vzorku

**Materiál:** pro DNA test je nutný 1 ml EDTA-plné krve. Alternativou je zaslání stěru z bukální sliznice

Ichtyóza je vrozená porucha keratinizace se zvláštní predispozicí pro některá plemena (West Highland White teriér, Kavalír King Charles španěl, Dobrman, Jack Russel teriér, Norfolk teriér, Jorkšírský teriér) a pro Zlatého retrievra, pro kterého existuje i genetický test. Onemocnění se projevuje již po porodu, kdy lze klinicky pozorovat pevně ulpívající šupiny, které se odlupují ve velkých vločkách. Kůže je také většinou zarudlá a alopetická. Navíc se může také současně vyskytovat hyperkeratóza prstních polštářků a nosního zrcátka.



▪ **Color Dilution Alopecia (CDA) – Alopecie barevných mutantů:**

další označení:

Diluce D-lokusu (zředění) (barva srsti)

**Dědičnost:** autosomálně recesivní

**Doba trvání testu:** 1-2 týdny po obdržení vzorku

**Materiál:** pro DNA-test je nutný 1 ml EDTA-plné krve. Alternativou je zaslání stěru z bukální sliznice

CDA je folikulární dystrofie u zvířat se zředěnou barvou srsti (například modrá, srnčí). Tímto onemocněním však netrpí všechna zvířata se zředěnou barvou srsti! Jsou postižena především plemena s touto barvou srsti: Jorkšírský teriér, Trpasličí pinč, Doga, Whipet, Italský chrtík, Saluki, Čau čau, Jezevčík, Silky teriér, Bostonský teriér, Novofundlandský pes, Bernský salašnický pes, Šetlandský ovčák, Šiperka, Čivava, Pudl, Irský setr. Po narození jsou tyto psi bez příznaků. První klinické symptomy jako je hypotrichóza (srst začne řídnout na hřbetě), alopecie a sekundární infekce se projevují mezi 6. měsícem a 2 lety věku. Důležitým rysem onemocnění je to, že jsou postiženy pouze oblasti se zředěnou barvou srsti. Genetický test je pouze testem pro průkaz zředění barvy srsti, nikoliv přímým důkazem CDA. Mutace na D-lokusu nezbytně neznamená, že se musí rozvinout také CDA, avšak u všech psů s CDA se mutace D-lokusu vyskytuje.

▪ **Digitální hyperkeratóza**

**Plemena:** Bordeauxská doga, Irský teriér a Kromfohrländer

**Dědičnost:** autosomálně recesivní

**Doba trvání testu:** 1-2 týdny po obdržení vzorku

Materiál: pro DNA test je nutný 1 ml EDTA-plné krve. Alternativou je zaslání stěru z bukální sliznice

První příznaky tohoto onemocnění se objevují od 4-9 měsíců věku: Prstní polštářky se stávají stále křehčími, dochází až k trhlinám a lomům, které mohou představovat vstupní bránu pro sekundární bakteriální infekci. Polštářky nejsou již kulaté a elastické, ale působí spíše ploše. Kromě toho mohou vznikat zbytnění, takzvané rohové čepy. Drápy rostou nadměrně rychle, důsledkem čehož může docházet k jejich nefyziologickému obrušování a tím k jejich následnému deformování. Na základě symptomů je toto onemocnění označováno jako „corny feet“. Štěně Krompföhrländera vykazuje již bezprostředně po porodu, avšak pouze po dobu několika hodin, sametovou, zvlněnou srst (nařasená nebo perská srst), měsíce později se stává srst zřetelně nařasenou a hmatové vousy se ohýbají směrem dopředu a dolů, přesněji řečeno se dokonce i vývrkovitě stáčí. Na délku a kvalitu života nemá toto onemocnění, při dostatečném ošetřování prstních polštářků, téměř žádný vliv. Avšak tyto zvířata vyžadují oproti zdravým psům zvýšenou péči. Onemocnění je známé také u jiných plemen psů, ale aktuálně je genetický test etablován pouze pro výše zmíněné plemeno.

Užitečné internetové odkazy k tématu:

- [www.laboklin.de/index.php?link=labogen/pages/html/de/home.html](http://www.laboklin.de/index.php?link=labogen/pages/html/de/home.html)
- [www.genetics.unibe.ch/content/forschung/hund/index\\_ger.html](http://www.genetics.unibe.ch/content/forschung/hund/index_ger.html)
- [www.vet.cam.ac.uk/idid/](http://www.vet.cam.ac.uk/idid/)
- <http://ic.upei.ca/cidd/>

**EXISTUJÍCÍ GENETICKÉ TESTY K VZÁCNĚ SE VYSKYTUJÍCÍM ONEMOCNĚNÍM:**

- Kongentální hypothyreóza (CGH) španělských vodních psů

- Ektodermální dysplazie /syndrom kožní fragility (ED/SFS) u Chesapeake Bay retrívů
- Junkční bulózní epidermolýza u Německých krátkosrstých ohařů
- Syndrom suchého oka a kudrnaté srsti u Kavalír king charles španělů
- Musladin –Lueke syndrom u bíglů
- Trpasličí vzrůst u Německého ovčáka, Saarlosova vlčáka, Československého vlčáka

#### **GENETICKÉ TESTY VE VÝZKUMU:**

- Alopecie X u Špice
- Atopická dermatitida u Labradorského a Zlatého retrívra
- Disproporcionální trpasličí vzrůst u Hovawarta, Labradorského a Zlatého retrívra
- Hypothyreóza u Hovawarta
- Sebadenitida u Hovawarta
- Symetrická lupoidní onychodystrofie (SLO) u Rhodéského ridgebacka