

## Degenerativní myelopatie u hovawartů

Psí degenerativní myelopatie (DM) je fatální neurodegenerativní onemocnění objevující se u mnoha plemen psů. Jedná se o nezánettivou degeneraci bílé hmoty míchy. Příznaky se objevují nejdříve od pátého roku života, obvykle ale až po osmém roce života psa. Dochází k postupnému nebolestivému slábnutí pánevních končetin, problémům s koordinací a chůzí, následuje atrofie svalstva, ataxie, inkontinence a končí úplným ochrnutím zadních končetin. Stav psa se postupně zhoršuje – příznaky mohou přibývat v průběhu až tří let, ale většinou dříve dojde k euthanasii psa.

Několik onemocnění míchy se projevuje podobnými symptomy jako DM. Klinická diagnóza DM může být definitivně provedena až post mortem histopatologickým rozbohem. Potvrzující diagnóza může být provedena také pozitivním výsledkem genetického testu.

DM u hovawartů je geneticky podmíněné onemocnění, jehož celá podstata zatím není ještě kompletně objasněna.

U řady plemen byla jako kauzální příčina identifikována bodová mutace c.118G>A v exonu 2 genu SOD1 (Awano at al. 2009). Záměnou G za A v sekvenci genu vznikne nesmyslný kodon – nedojde k řádnému přepisu genu a protein superoxididmutasa 1, který je kódován SOD1 genem, nevznikne.

U hovawartů, dlouhosrstých kólií a standardních pudlů se vyskytuje ještě inzerční mutace – jedná se o vložení 54 nukleotidů polyT úseku a 15 nukleotidů obsahujících duplikaci spojení 2. intronu a 2. exonu. Ve studii provedené v Itálii (Turba el al. 2016) na 92 hovawartech byla nalezena frekvence inzerce ve 26,6 %, čemuž odpovídalo zastoupení genotypů N/N 52,2 %, N/ins 42,4 % a ins/ins 5,4 %.

Pro názornost si můžeme možné genové varianty znázornit. Na obrázku níže najdete přehled existujících alel. Alela c.118Ains nebyla pozorována, protože inzerce pravděpodobně vznikla na alele c.118G a byla dále rodově rozšířena. Protože každý zdědí vždy jednu alelu od otce a jednu alelu od matky, uvádíme ještě přehled možných kombinací alel, které může pes nést.

Graficky můžeme existující alely znázornit takto:

1. Gen SOD1, alela c.118GN (bez bodové mutace, bez inzerce)



2. Gen SOD1, alela c.118Gins (bez bodové mutace, s inzercí)

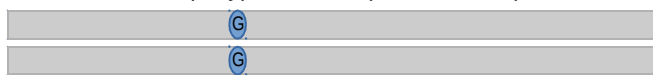


3. Gen SOD1, alela c.118AN (s bodovou mutací, bez inzerce)



Jedinec tedy může nést tyto kombinace alel, každou dostane od jednoho rodiče:

1. Gen SOD1, haplotyp c.118G/G (bez rizika DM)



2. Gen SOD1, haplotyp c.118G/ins (pravděpodobně bez rizika DM, přenašeč inzerce)



3. Gen SOD1, haplotyp c.118G/A (bez rizika DM, přenašeč bodové mutace)



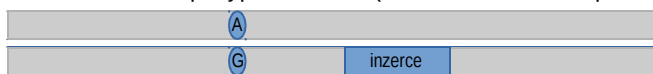
4. Gen SOD1, haplotyp c.118A/A (v riziku DM)



5. Gen SOD1, haplotyp ins/ins (riziko DM neznámé)



6. Gen SOD1, haplotyp c.118A/ins (riziko DM neznámé, přenašeč inzerce i bodové mutace)



Není známý klinický projev DM u psů s genotypem ins/ins – výzkum v tomto směru pokračuje. U psů ins/ins je možno očekávat vliv mutace na funkci enzymu superoxiddismutasa 1, neboť inserce zasahuje do kódující oblasti genu. Lze očekávat změny v enzymu superoxiddismutasa 1 také u psů c.118A/ins, neboť ani jedna alela genu neprodukuje normální enzym.

Není vyloučeno, že budou nalezeny další mutace v souvislosti s DM u hovawartů i jiných plemen. Například u bernských salašnických psů již byla identifikována specifická mutace c.52A>T v exonu 1 SOD1 genu.

Existuje určité procento geneticky 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 penetrací nemoci mezi pozitivními homozygoty.

Genetickým testem nelze předpovědět věk nástupu onemocnění ani míra závažnosti symptomů. Bohužel genetický test není schopen zjistit, jak závažně bude postižen potomek DM pozitivního psa bez příznaků. Výzkumy degenerativní myelopatie stále probíhají. Lze předpokládat, že další skutečnosti budou odhaleny.

Bodová i inserční mutace jsou děděny autosomálně recesivně. DM se vyskytuje u psů obou pohlaví se stejnou frekvencí. Při výběru chovného páru nezáleží na tom, který z partnerů nese který genotyp, ale je důležité vyvarovat se takové kombinace rodičů, kterým se mohou narodit štěňata s genotypem c.118A/A.

### Genetické testování DM u hovawartů

Inserční mutace byla identifikována později než bodová mutace. Je zde reálné riziko, že laboratoře testující bodovou mutaci měly nebo stále mají špatně navrženou metodiku, která nezohledňuje specifikum SOD1 genu hovawartů, dlouhosrstých kolíí a standardních pudlů. U těchto plemen existuje možnost reportování falešně postižených jedinců c.118A/A. V případě, že diagnostický test pracuje s primerem umístěným do místa inserce, metoda není schopná detekovat alelu c.118Gins a detekuje pouze c.118AN. Tak dojde k drop-outu alely a výsledek je chybně reportován jako DM P/P (postižený DM) místo DM N/P (přenašeč mutace). To je jedno z vysvětlení, proč mohou existovat psi

s reportovaným geneticky pozitivním výsledkem a přitom ani ve vyšším věku nemají klinické příznaky nemoci.

Metodika využívaná v laboratoři Genomia od září 2015 zohledňuje existenci inserce a detekuje spolehlivě bodovou mutaci.

Genomia zajišťuje rutinní genetický test bodové mutace c.118G/A, který Genomia vyvinula a validovala. Test je nyní prováděn u partnerské laboratoře, protože testování bodové mutace je v ČR a v několika dalších zemích EU limitováno patentem. Pro genetické testování je potřeba vzorek krve nebo stěru sliznice ústní dutiny. Krev se odebírá do zkumavek s EDTA. Stěr sliznice ústní dutiny se provádí sterilními kartáčky, kterými se stírá vnitřní strana tváře psa (nestírá se jazyk ani sliny). Stěrový kartáček se uchovává v papírové obálce, nesmí se uzavírat do neprodyšných obalů. Doporučuje se odběr provést u veterináře, který při odběru současně zkontroluje a potvrdí identitu psa. Vzorky k testování odesílejte na adresu Genomia, Janáčkova 51, 32300 Plzeň. Výsledky genetického testu jsou hotové obvykle za 7-10 dnů. Cena testu pro členy Hovawart klubu ČR je 1260 Kč za test včetně DPH. Platby se nejčastěji realizují převodem na účet. Výsledný certifikát Vám bude zaslán emailem ve formátu pdf po uhrazení ceny testů.

Genetický test inserce není rutinně prováděn. V případě zájmu o studii populace ČR by bylo možné test v laboratoři Genomia validovat. Nicméně doporučujeme počkat až bude objasněn klinický význam inserce.

Autor: Mgr. Markéta Dajbychová, Genomia

#### Reference:

Awano, T., Johnson, GS., Wade, CM., Katz, ML., Johnson, GC., Taylor, JF., Perloski, M., Biagi, T., Baranowska, I., Long, S., March, PA., Olby, NJ., Shelton, GD., Khan, S., O'Brien, DP., Lindblad-Toh, K., Coates, JR. : Genome-wide association analysis reveals a SOD1 mutation in canine degenerative myelopathy that resembles amyotrophic lateral sclerosis. Proc Natl Acad Sci U S A 106:2794-9, 2009. Pubmed reference: 19188595. DOI: 10.1073/pnas.0812297106.

M. E. Turba, R. Loechel, E. Rombol, G. Gandini and F. Gentilini: Evidence of a genomic insertion in intron 2 of SOD1 causing allelic drop-out during routine diagnostic testing for canine degenerative myelopathy; Animal genetics Volume 48, Issue 3, June 2017, Pages 365–368