

# Choroby dziedziczne psa – podłoże molekularne oraz odpowiedniki u innych ssaków

Marek Świtoński, Anna Hadyńska,  
Izabela Szczerbal

AR w Poznaniu

Pies został udomowiony około 14 tys. lat temu, jednak dopiero w ciągu ostatnich kilku wieków, w efekcie wielokierunkowo prowadzonej pracy hodowlanej, doszło do bardzo silnego zróżnicowania fenotypowego w obrębie tego gatunku. Aktualnie wyodrębnia się około 400 ras psów, które różnią się nie tylko pokrojem, umaszczeniem i temperamentem, ale również częstością występowania specyficznych chorób dziedzicznych. Zawężenie puli genowej w poszczególnych rasach psów doprowadziło do przypadkowego utrwalenia genów odpowiedzialnych za rozwój chorób genetycznych. Prowadzone od ponad 10 lat intensywne badania, których celem jest zbudowanie markerowej mapy oraz poznanie sekwencji genomu psa stworzyły warunki do efektywnej identyfikacji genów, których zmutowane allele są odpowiedzialne za wystąpienie różnych chorób [11]. Wykazano, że ponad połowa chorób dziedzicznych psa uwarunkowana jest monogenowo [5].

Szeroko zakrojone badania chorób dziedzicznych psa mają podwójne znaczenie. Z jednej strony służą one ogólnej strategii hodowlanej, która, podobnie jak w przypadku innych gatunków zwierząt domowych, ma na celu zapobieganie rozprzestrzenianiu się niepożądanych genów. Drugi aspekt tych badań związany jest z coraz częściej przypisywanej temu gatunkowi funkcji modelu zwierzęcego dla terapii genowej niektórych chorób dziedzicznych człowieka. Ponadto, w związku ze szczególnie częstym występowaniem chorób nowotworowych u określonych ras psów, badania genomu psa stwarzają szansę poznania podłoża molekularnego dziedzicznych skłonności do rozwoju procesu nowotworowego [8]. Ponieważ postęp w badaniach chorób dziedzicznych psa jest znacznie większy niż w przypadku innych gatunków zwierząt domowych, to wiedza ta może być również wykorzystana do

identyfikacji genów odpowiedzialnych za choroby dziedziczne zwierząt gospodarskich. Skoro zdecydowana większość chorób dziedzicznych psa ma nie tylko analogiczny obraz kliniczny jak u człowieka, ale jest spowodowana mutacjami tego samego genu, to można przyjąć, że podobnie będzie przedstawiała się sytuacja względem innych gatunków ssaków.

Do tej pory zidentyfikowano podłoże molekularne ponad 30 chorób dziedzicznych psa, spośród ponad 400 opisanych u tego gatunku (tab.). Oznacza to, że hodowcy psów posiadają możliwość wykrywania nosicieli zmutowanych genów poprzez bezpośrednie badanie DNA. Dzięki temu możliwe jest praktycznie całkowite wyeliminowanie takiego genu, jeśli zostanie zastosowane powszechne genotypowanie reproduktorów i nie będą dopuszczane do rozrodu zwierzęta będące nosicielami zmutowanego genu. Wśród tych chorób jest kilka, które mają dobrze znane odpowiedniki u zwierząt gospodarskich.

**Tabela**  
Klasyfikacja chorób dziedzicznych psa, dla których zidentyfikowano mutacje odpowiedzialne za ich powstanie

Grupa chorób	Liczba jednostek chorobowych	Przykłady chorób
Lizosomalne choroby spichrzeniowe	6	mukopolisacharydozy typu I, IIIA i VII
Choroby krwi oraz układu immunologicznego	9	ciężki złożony niedobór odporności (SCID), niedobór cząsteczek adhezyjnych (CLAD), hemofilia typu A i B
Choroby oczu	7	dziedziczna dystrofia siatkówki (CSNB)
Choroby neurologiczne	4	narkolepsja
Inne	5	gorączka złośliwa (MH), dystrofia mięśniowa

## Gorączka złośliwa (MH – Malignant Hyperthermia) psów i świń

Podłoże molekularne gorączki złośliwej ludzi zostało ustalone w 1990 roku. Było to możliwe dzięki wykorzystaniu wiedzy o dziedziczeniu cechy podatności świń na stres (tzw. locus halotanowy – Hal) i markerach genetycznych sprzężonych z locus Hal. W ślad za odkryciem mutacji genu RYR1 jako sprawcy gorączki złośliwej człowieka, opisano mutację w tym samym genie świni. Choroba ta występuje również u psów i jest spowodowana mutacją tego samego genu (RYR1), jednak model dziedziczenia gorączki złośliwej u psów jest inny aniżeli u świń. U psów choroba jest uwarunkowana przez dominujący allel genu, podczas gdy u świń jest efektem mutacji recesywnej (tranzycja C→T w pozycji 1843). W przypadku psów choroba ta była opisana u kilku ras (np. labradory, pointerzy, greyhoundy, a także mieszańce), a mutacja ją wywołująca to tranzycja T→C w pozycji 1640 nukleotydu genu

RYR1. Jej skutkiem jest zmiana sekwencji aminokwasów w kodowanym polipeptydzie – zamiast waliny w pozycji 547 aminokwasu znajduje się alanina. Fenotypowe ujawnienie się tej choroby u psów ma miejsce wówczas, gdy zastosowana zostanie anestezja halotanem. Towarzyszą temu następujące objawy: wzmożona akcja serca, gwałtowny wzrost temperatury ciała i napięcie mięśni, a także zaburzenie funkcji nerek. Dominujący charakter zmutowanego allelu u psów może wskazywać, że obserwowane u świń z genotypem heterozygotycznym pośrednie wartości niektórych cech użytkowych, np. częstość występowania wad mięsa, względem przeciwnych homozygot, odzwierciedla także nie w pełni recesywny charakter mutacji RYR1<sup>T</sup> [2].

#### **Niedobór cząsteczek adhezyjnych leukocytów (LAD – Leukocyte Adhesion Deficiency) u psów i bydła**

Choroba BLAD (Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency) jest jedną z tych chorób dziedzicznych bydła, która została szeroko rozprzestrzeniona w efekcie wykorzystania w inseminacji nasienia buhajów – nosicieli tej mutacji. Przyczyną tej choroby jest mutacja genu kodującego podjednostkę CD18 beta-2 integryny leukocytarnej (ITGB2). Dotknięte chorobą zwierzęta giną w wyniku skrajnej wrażliwości na nawracające infekcje bakteryjne, spowodowanej niezdolnością leukocytów do przechodzenia ze strumienia krwi do zainfekowanych tkanek.

Mutacja tego samego genu jest przyczyną analogicznej choroby – CLAD (Canine Leukocyte Adhesion Deficiency) u seterów irlandzkich. Obraz kliniczny chorych psów był bardzo podobny do tego, jaki opisano w przypadku bydła. Mutacja, która jest odpowiedzialna za tę jednostkę chorobową to substytucja jednonukleotydowa (G→C) w genie ITGB2, w wyniku której zmianie ulega sekwencja aminokwasów (cysteina na serynę) w pozycji 36 kodowanego polipeptydu.

#### **Ciężki złożony niedobór odporności (SCID – Severe Combined Immunodeficiency Disease) psów i koni**

Choroba SCID upośledza funkcjonowanie układu odpornościowego, czego skutkiem są liczne infekcje kończące się śmiercią. Wyróżnia się dwie podstawowe odmiany tej choroby, spośród których jedna jest uwarunkowana genem recesywnym autosomalnym, a druga – genem recesywnym położonym w chromosomie X, czyli sprzężonym z płcią. U psów zidentyfikowano obie postaci tej choroby. Autosomalna postać choroby SCID wywołana jest mutacją genu kinazy białkowej zależnej od DNA (DNA-PK). Uwagę zwraca to, że zarówno u psów, jak i koni, a także myszy mutacje genu DNA-PK, prowadzące do rozwoju SCID, powodują skrócenie łańcucha polipeptydowego, który w postaci prawidłowej ma długość ponad 4100 aminokwasów [6]. U psów mutacje genu DNA-PK opisano dotąd w dwóch rasach: parson jack russell terier i welsh corgi cardigan. Mutacja typu substytucji powoduje pojawienie się przedwczesnego kodonu STOP i w ślad za tym powstanie skróconego łańcucha polipeptydowego. Zwierzęta obciążone tą chorobą nie produkują funkcjonalnych limfocytów T i B. Podobny typ choroby SCID opisano

u koni arabskich, a mutacją sprawczą jest delecja pięciu nukleotydów, która również prowadzi do pojawienia się przedwczesnego kodonu STOP. Jej wystąpienie w układzie homozygotycznym skutkuje, podobnie jak u psów, brakiem funkcjonalnych limfocytów. Warto zauważyć, że mutacja ta nie występuje w polskiej populacji koni arabskich [12], a jest obecna w populacji północnoamerykańskiej.

Drugi typ choroby SCID (X-SCID, czyli choroba SCID sprzężona z płcią), warunkowany przez gen recesywny położony w chromosomie X, opisano w dwóch rasach psów: basset hound i welsh corgi cardigan. Mutacje zidentyfikowano w genie kodującym łańcuch gamma receptora interleukiny 2 (IL2RG). Produktem ekspresji tego genu jest polipeptyd składający się z 373 aminokwasów. W rasie basset hound mutacja polegała na delecji czterech nukleotydów, która skutkowała zmianą fazy odczytu i w ślad za tym pojawieniem się przedwczesnego kodonu STOP. Podobny efekt wystąpił w rasie welsh corgi cardigan, z tym jednak, że mutacją odpowiedzialną za skrócenie łańcucha polipeptydowego była insercja jednego nukleotydu. Powstanie niefunkcjonalnego łańcucha gamma receptora interleukiny 2 upośledza produkcję przeciwciał (IgG i IgA) przez limfocyty B oraz hamuje proces dojrzewania limfocytów T. Na uwagę zasługuje, że mutacje genu IL2RG są najczęstszą przyczyną choroby SCID u dzieci – do tej pory opisano 145 mutacji punktowych prowadzących do rozwoju tej choroby u dzieci [6]. Wskazuje to, że choroba ta może występować także u innych gatunków ssaków, w tym zwierząt gospodarskich.

#### **Mukopolisacharydozy – przykład lizosomalnych chorób spichrzeniowych**

Lizosomalne choroby spichrzeniowe polegają na gromadzeniu nieodegradowanych metabolitów w lizosomach. Do tej grupy chorób zaliczane są m.in. mukopolisacharydozy, które polegają na gromadzeniu w lizosomach glikoaminoglikanów, w efekcie mutacji jednego spośród 11 genów kodujących enzymy zaangażowane w degradację tego związku. Choroba ta u ludzi prowadzi do zaburzeń wzrostu organizmu, zniekształceń kręgosłupa oraz nieprawidłowego rozwoju wątroby, śledziony i innych narządów wewnętrznych.

U psów opisano do tej pory trzy typy mukopolisacharydoz (I, IIIA i VII), które wywołane były recesywnymi mutacjami autosomalnymi. Choroby tego typu nie zostały opisane u zwierząt gospodarskich. W medycynie człowieka mukopolisacharydozy zaliczane są do grupy chorób dziedzicznych występujących z niską częstością. Ważne jest natomiast to, że mogą one być skutecznie leczone przy pomocy terapii genowej. Opracowanie takiej terapii musi być oczywiście poprzedzone wnikliwymi badaniami, w tym na organizmach modelowych, wśród których pies wydaje się być szczególnie przydatny. Przykładem może być zastosowanie terapii genowej u psów ze zidentyfikowaną mukopolisacharydozą typu VII (MPSVII). Szceniętom w wieku 2-3 dni wprowadzono do krwiobiegu zrekombinowane retrowirusy zawierające prawi-

dłowy gen glukoronidazy (GUSB). Po kilku miesiącach poziom enzymu GUSB w osoczu ustalił się na prawidłowym poziomie, a zwierzęta osiągnęły m.in. masę ciała przekraczającą 80% masy zdrowych zwierząt [7].

### Choroby oczu psów i ludzi

W hodowli psów niektórych ras poważnym problemem są dziedziczne choroby oczu. Do tej pory poznano mutacje warunkujące co najmniej siedem takich chorób. Ich diagnozowanie jest oferowane przez specjalistyczne laboratoria analityczne (np. <http://www.optigene.com>). Jedną z tych jednostek chorobowych – dziedziczna dystrofia siatkówki (CSNB – wrodzona niepostępująca nocna ślepotą) psów rasy briard jest odpowiednikiem wrodzonej ślepoty Lebera u dzieci. Dziedziczna dystrofia siatkówki psów rasy briard jest spowodowana delecją czterech nukleotydów w genie RPE65, którego ekspresja zachodzi w nabłonku barwnikowym siatkówki. Mutacja ta jest rozprzestrzeniona w wielu populacjach tej rasy, także w Polsce [9]. Chorobę CSNB potraktowano jako model w terapii genowej. Metodę leczenia z zastosowaniem zrekombinowanego adenowirusa zastosowano u psów rasy briard. Do wektora wirusowego wprowadzono konstrukt genu zawierający cDNA prawidłowego genu RPE65, którego mutacja jest odpowiedzialna za tę jednostkę chorobową, został on wprowadzony pod siatkówkę chorych psów. Dzięki zastosowanej terapii przywrócono zdolność widzenia zwierzętom objętym eksperymentem [1].

### Zespół odwróconej płci u psów, kóz, koni i świń

Zaburzenia rozwojowe układu rozrodczego prowadzące do obojactwa opisywane są u wielu gatunków ssaków (m.in. kozy, świni, konia, psa). W przypadku psów najczęściej występującym zaburzeniem tego typu jest dziedziczne odwrócenie płci u zwierząt z żeńskim zestawem chromosomów płci, brakiem genu SRY oraz obecnością jąder lub jajnikojąder [10]. Podłoże molekularne tej nieprawidłowości jest nieznanne.

Szeroko zakrojone badania analogicznego zaburzenia rozwojowego kóz prowadzono przez wiele lat. Wreszcie udało się ustalić, że tzw. zespół obojactwa bezrożnych kóz (PIS – Polledness and Intersexuality Syndrome) spowodowany jest delecją fragmentu DNA o długości 11 700 par zasad w chromosomie 1. Ubytek ten zakłóca ekspresję sąsiednich genów – FOXL2 i PISRT1, zaangażowanych w determinację i różnicowanie płci [4].

Identyfikację mutacji odpowiadającej za obojactwo kóz wykorzystano w badaniach psów z podobnym zaburzeniem. Analiza dziedziczenia polimorficznego markera mikrosatelitarnego, ściśle sprzężonego z genem PISRT1 w rodzinach, w których pojawiły się zwierzęta obojactwa, wykluczyła związek tego fragmentu chromosomowego z warunkowaniem dziedzicznego odwrócenia płci u psów [3]. Można przewidywać, że przyczyna tej formy obojactwa psów będzie wkrótce odkryta i wówczas stanie się ważną wskazówką, która może przyczynić się do identyfikacji mutacji odpowiadającej za ten sam typ obojactwa świń i koni.

### Podsumowanie

Postęp w identyfikacji mutacji odpowiedzialnych za powstanie chorób dziedzicznych zwierząt gospodarskich wydaje się nie w pełni zadowalający. Zauważyć należy, że wiele chorób dziedzicznych nie ma charakteru letalnego (np. dziedziczne choroby oczu, choroby neurologiczne), ale z pewnością obniża jakość życia dotkniętych nimi zwierząt. Zatem identyfikacja nosicieli niepożądanych genów powinna mieścić się w ogólnej strategii poprawy dobrostanu zwierząt. Przedstawione powyżej przykłady podobieństwa chorób dziedzicznych psa i innych ssaków wskazują, że dynamicznie rozwijająca się wiedza o genomie psa może być przydatna nie tylko w rozwijaniu terapii genowej u człowieka, ale również identyfikowaniu podłoża molekularnego chorób genetycznych zwierząt gospodarskich. Tym samym pies może być uznany za ważny gatunek modelowy w genetyce klinicznej człowieka i innych ssaków.

**Literatura:** 1. Acland G.M., Aguirre G.D., Ray J., Zhang Q., Aleman T.S., Cideciyan A.V., Pearce-Kelling S.E., Anand V., Zeng Y., Maguire A.M., Jacobson S.G., Hauswirth W.W., Bennett J., 2001 – *Nature Genetics* 28, 92-95. 2. Koćwin-Podsiadła M., Krzęcio E., 2005 – *Przegląd Hodowlany* 4, 13-20. 3. Kothapalli K.S.D., Kirkness E., Natale L.J., Meyers-Wallen V.N., 2003 – *Animal Genetics* 34, 467-468. 4. Pailhoux E., Vigier B., Chaffaux S., Servel N., Taourit S., Furet J.P., Fellous M., Grosclaude F., Cribiu E.P., Cotinot C., Vaiman D., 2001 – *Nature Genetics* 29, 453-458. 5. Patterson D.F., 2000 – *Journal of Veterinary Internal Medicine* 14, 1-9. 6. Perryman L.E., 2004 – *Veterinary Pathology* 41 (2), 95-100. 7. Ponder K.P., Melniczek J.R., Xu L., Weil M.A., O'Malley T.M., O'Donnell P.A., Knox V.W., Aguirre G.D., Mazrier H., Ellinwood N.M., Sleeper M., Maguire A.M., Volk S.W., Mango R.L., Zweigle J., Wolfe J.H., Haskins M.E., 2002 – *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 99, 13102-13107. 8. Szczerbal I., 2005 – *Medycyna Weterynaryjna* 61 (3), 257-261. 9. Świtoński M., Konieczny P., Klukowska J., Janyga B., Aguirre G., 2002 – *Medycyna Weterynaryjna* 58 (12), 946-949. 10. Świtoński M., Nowacka J., Skorczyk A., Chmurzyńska A., Nizański W., 2004 – *Medycyna Weterynaryjna* 60 (7), 705-707. 11. Świtoński M., Szczerbal I., Nowacka J., 2004 – *Journal of Applied Genetics* 45, 195-214. 12. Terry R.R., Cholewiński G., Cothran E.G., 1999 – *Journal of Applied Genetics* 40, 39-41.



### Zakład Deratyzacji „SZCZUROŁAP”

Wiesław i Jarosław Dobrzeńscy  
ul. Graniczna 10  
87-100 Toruń  
tel. (0-56) 655-21-41 lub 654-65-47  
tel. kom. 0 601-212-487

Wyniszczam całkowicie bytujące i dochodzące szczury, z gwarancją. Fermy, mieszalnie pasz, zakłady rolne, magazyny, bezpieczeństwo 100%. Metodę przedstawiłem w filmie „Szczurołap”. Dla zainteresowanych wdrażamy HACCP.