

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrochemie, přírodních a potravinových zdrojů

Katedra obecné zootechniky a etologie



Kontrola dědičných očních vad u plemen psů využívaných ke speciálnímu asistenčnímu výcviku

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Ing. Ivona Svobodová, PhD.

Autor práce: Hana Kopáčová

2009

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci, na téma "**Kontrola dědičných očních vad u plemen psů využívaných ke speciálnímu asistenčnímu výcviku,**" zpracovala samostatně s přispěním vedoucí bakalářské práce a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

Datum: 1.4.2009

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala Ing. Ivoně Svobodové, PhD. za cenné rady a připomínky při vedení bakalářské práce.

Velké poděkování patří také MVDr. Barbaře Lenské, která mi věnovala mnoho času při odborných konzultacích a dále Ing. Zuzaně Pacákové za trpělivost a pomoc se statistickým zpracováním dat.

Děkuji paní Bc. Vladimíře Tiché za to, že díky její podpoře a kynologickým zkušenostem tato bakalářská práce vznikla a všem svým blízkým za pomoc a povzbuzení.

Obsah

1. Úvod	5
1.1 Cíl	5
2. Literární rešerše	6
2.1. Prověření zdravotního stavu psů	6
2.1.1. Vyšetření na oční choroby	6
2.2. Diagnostikované genetické oční choroby	8
2.2.1. Progresivní retinální atrofie (PRA)	8
2.2.1.1. Klinické příznaky a oftalmoskopické změny pozorované u PRA	10
2.2.1.2. Studie výskytu oční vady PRA	12
2.2.2. Dysplazie sítnice (RD)	12
2.2.2.1. Formy retinální dysplázie a jejich příznaky	13
2.2.2.2. Studie výskytu oční vady RD	14
2.2.3. Katarakta – zákal čočky	14
2.2.3.1. Studie výskytu katarakty u psů	15
2.2.4. Anomálie oka kolií (CEA – Collie eye anomaly)	17
2.2.5. Kolobom	18
2.2.6. Distichiasis	18
2.2.7. Trichiasis	18
2.2.8. Entropium	18
2.2.9. Ektropium	19
2.2.10. Luxace čočky	19
2.2.11. Microphthalmie	19
2.2.12. Ostatní genetické oční choroby	19
2.3. Metody diagnostiky očních chorob	20
2.3.1. Oftalmologické vyšetření	20
2.3.2. Vyšetření na oční choroby prostřednictvím testu DNA	20
3. Metodika zpracování dat	23
3.1. Možnosti testování dle věkových kategorií	23
3.2. Testování psů prostřednictvím oftalmologického vyšetření	23
3.3. Veterinární osvědčení	24
4. Statistické vyhodnocení	25

4.1. Kontrolovaná skupina psů	25
4.2. Statistické výpočty	25
4.3. Porovnání kontrolované skupiny psů s výsl. v populaci stejných plemen v ČR	32
5. Diskuse	35
6. Závěry a doporučení	38
7. Přehled použité literatury	39

1. Úvod

V současné době se v naší zemi, tak jako v dalších evropských státech rozšířil způsob terapeutického využití psů v systému „ucelené rehabilitace.“ Znalostí kynologie se již po dlouhá léta využívalo při výcviku psů vodících. Nyní se tento výcvik z pohledu kynologického řadí pod pojem „specializovaného výcviku asistenčních psů,“ kteří jsou využíváni jako psi vodící, asistenční, signální, nebo jako pomocníci k tělesně postiženým, či k lidem s kombinovanými vadami.

Roste zájem organizací, které poskytují péči tělesně či mentálně postiženým, seniorům či obecně - skupinám lidí se „speciálními potřebami,“ a zvyšují se požadavky na asistenční psy pro jednotlivce. S tímto také vzniká větší potřeba zkvalitňování chovu vybraných plemen psů s důrazem na jejich fyzickou a psychickou způsobilost k náročným výkonům při specifických pracovních činnostech.

Genetické choroby jsou především s postupujícím věkem psa podstatným faktorem snížení výkonu, nebo dokonce naprosté nezpůsobilosti. Tato bakalářská práce je zaměřena na genetické oční vady, které se i v České republice postupně stávají podstatným selekčním kritériem při výběru psů do asistenčního výcviku.

1.1 Cíl

Cílem bakalářské práce je vyhodnocení testování psů na genetické oční choroby v podmínkách českých výcvikových center a porovnání výsledků se studii zahraničních specialistů, kteří se danou problematikou zabývají. Součástí práce je také zhodnocení současných metod vyšetření ve srovnání s genetickými metodami analýzy DNA, které se s velkou pravděpodobností v budoucích letech stanou součástí selekčního procesu i v České republice.

2. Literární řešerše

2.1. Prověření zdravotního stavu psů

Psi, vybíraní k asistenčnímu výcviku, by měli projít striktními testy, které prokáží, jak dobře je každý jedinec způsobilý k této náročné činnosti po psychické a fyzické stránce. Předčasné vyřazení psa je vždy velký problém vzhledem k vytvořenému poutu mezi majitelem a zvířetem. Zároveň u nedostatečně zdravotně prověřených psů dochází k markantnímu zvyšování finančních nákladů na veterinární péči s jejich postupujícím věkem. Vyšetřovací metody jsou mezinárodně uznané testy, na jejichž vývoji se podílely odborníci z vědeckých pracovišť veterinární medicíny i odborníci z výcvikových center a zkušení chovatelé (Froling, 1998).

V České republice o zařazení psa do intenzivního speciálního výcviku rozhoduje trenér či organizace. Uznávané organizace provádí dobrovolně různá testování zdravotního stavu a povahových vlastností, přestože tato oblast není legislativně ošetřena. Společnost ADEu (Assistance Dogs International, Inc.) ve svých standardech doporučuje, aby asistenční pes byl vždy důkladně zdravotně posouzen. Dle “Metodiky praktického využívání asistenčních a canisterapeutických psů společnosti Helpes, o.s.,” se ze zdravotního hlediska hodnotí především zda pes není zatížen onemocněním kyčelních kloubů, loktů, ramen, případně páteře. Pes musí být klinicky zdrav a musí mít negativní výsledek vyšetření očního pozadí. Výcvikové organizace v naší zemi zařazují do specializovaného výcviku zvířata ve věku od 10 do 12 měsíců s ohledem na fyzickou a psychickou vyspělost psa. Intenzivní výcvik trvá průměrně 6 měsíců. Při výcviku asistenčního psa pro klienta s kombinovanou vadou se doba může prodloužit až na 2 roky. Záleží na potřebách klienta, plemenu a učenlivosti psa (Galetová, 2008).

2.1.1. Vyšetření na oční choroby

Všechna plemena psů jsou ohrožena výskytem genetických očních chorob, ale plemena jako labradorský retrívr, zlatý retrívr nebo border kolie, která patří mezi nejčastěji vybíraná pro asistenční výcvik, mají predispozice k specifickým očním problémům. V současné době je za efektivní metodu v zahraničí považováno oftalmologické vyšetření očí u rodičů vrhu, či individuálně vybraných štěňat ve věku 6 – 8 týdnů při zařazení do předvýchovy (Froling, 1998).

Dle Lenské (2009) je vyšetření štěňat ve věku 6 - 8 týdnů podstatné především u plemen kólií. Jestliže jsou do výcviku vybírána např. plemena retrívrů, je ideální vyšetření v juniorském věku před zařazením do vlastního asistenčního výcviku.

Froling (1998) uvádí, že v Západní Evropě byla založena organizace CERF (The Canine Eye Registration Foundation), která má za úkol selektovat psy postižené dědičnými očními vadami a vyřazovat je tak z chovatelského programu. V současné době již existuje možnost detekce jedné z nejzávažnějších očních chorob zvané Progresivní retinální atrofie (PRA) prostřednictvím testu DNA. Tento způsob testu zaručuje nejspolehlivější výsledek v krátkém časovém období. Tak lze selektovat mladé jedince na úplném začátku programu, a tím zároveň předejít zjištění choroby až ve věku kolem dvou let, kdy se první příznaky onemocnění nejčastěji objeví. Zrovna tak lze detekovat z DNA další genetické oční choroby jako je Anomálie oka kólií - CEA nebo Hereditární katarakta HC.

Galetová (2008) poukazuje na kvalitu posouzení zdravotního stavu psů v závislosti na délce praxe a specializaci veterinárního lékaře. Správné vyhodnocení vyšetření na vrozené vývojové vady zajistí použitelnost zvířete v následujících letech bez komplikací a vysokých nákladů na veterinární péči. Mezi nejčastější onemocnění mající vliv na činnost těchto psů patří právě oční choroby končící až ztrátou zraku psa.

Beránek (2008) spojuje celou řadu onemocnění s genetickou predispozicí. Znalost zatížení jednotlivých plemen nejen oftalmologickou problematikou je tedy nezbytně nutný předpoklad pro stanovení správné diagnózy a především prognózy. Každé plemeno může být postiženo specifickými chorobami očí a to v závislosti na lokalizaci výskytu oční vady nebo věku zvířete.

Hron (2000) uvádí, že v zahraničí již existují seznamy dědičných očních chorob vyskytujících se specificky u každého plemene. V těchto seznamech je také uveden věk zvířat, ve kterém je vhodné oftalmologické vyšetření provést.

Dle Galetové (2008) je v České republice metodicky rozpracován a u řady plemen aplikován diagnostický a zároveň ozdravný program genetických očních vad. Veterinární lékař specializující se na posuzování genetických očních vad provede hodnocení u různých plemen na základě klinického nálezu či genetického vyšetření. Klinické vyšetření hodnotí momentální stav psa. Naopak genetické vyšetření odhalí oční vadu ještě dříve než jsou klinické příznaky patrné a z tohoto důvodu má z hlediska využití psa větší význam. Mezi

plemena, u kterých se v současnosti provádí selekční program na různém stupni patří mimo jiné labradorský retrievr, border kolie, belgický ovčák či pudl.

2.2. Diagnostikované genetické oční choroby

2.2.1. Progresivní retinální atrofie (PRA)

McCalla (2001) charakterizuje PRA jako genetické onemocnění sítnice (postupnou degeneraci oční sítnice), projevující se bilaterálně (u obou očí) nezávisle časově. Nejedná se o bolestivý stav, ale o onemocnění postupně vedoucí k úplnému oslepnutí. Postihuje mnoho plemen psů i jejich křížence. U většiny studovaných plemen jde o recesivně dědičné onemocnění. Vyskytují se ale plemena, u kterých jde o dědičnost dominantní – anglický mastif, bulmastif. Znamé jsou i případy, kde hovoříme o dědičnosti na pohlaví vázanou – sibiřský husky a aljašský malamut.

Gelatt (2007) popisuje, že u plemene sibiřský husky se onemocnění klinicky projevuje pouze u psů - samců. U malamutů se jedná o selektivní poškození čípků, které zajišťují denní vidění. Postižení jedinci trpí tzv. hemeralopií neboli denní slepotou. Za špatných světelných podmínek vidí normálně. Primárně více jsou postiženi psi. McCalla (2001) dále uvádí, že v současné době neexistuje účinná terapie, která by nemoc vyléčila. Lze podávat doplňky stravy obsahující antioxidanty pro podporu zdraví oční sítnice a tím prodloužit období, kdy je pes stále ještě schopen vidět, i když omezeně.

Dle Gelatta (2000) byl obecný termín progresivní retinální atrofie (PRA) vědci časem rozdělen na dva typy PRA, v závislosti na oftalmoskopické diagnostice – výskytu lézí na očním pozadí. Rozlišujeme tak generalizovanou PRA (GPRA) a centrální PRA (CPRA).

Generalizovaná PRA v konečné fázi zahrnuje celkovou hyperreflexi sítnice, kdy dochází k úplné atrofii nervových struktur sítnice. Konečné stadium se klinicky projevuje úplným oslepnutím. U této formy PRA je primárně postižena fotoreceptorová vrstva sítnice, která obsahuje tyčinky a čípky. Čípky zajišťují vidění ve dne a tyčinky vidění v noci. U většiny plemen se objevuje jako první poškození tyčinek a pacient proto nejprve vykazuje problémy za šera či špatných světelných podmínek. V rámci tohoto onemocnění rozlišujeme pojmy dysplazie a degenerace. V případě dysplazie vznikají patologické změny na sítnici už v době jejího vývoje. Popisuje se např. dysplazie tyčinek a čípků (rcd1 – u irských setrů, rcd 2

– u kolií, rcd 3 - u velškorgi), dysplazie fotoreceptorů (pd) u malých kníračů. K úplné ztrátě zraku většinou dochází v průběhu prvních dvou let života.

V případě degenerace se změny objevují až na sítnici, jejíž vývoj proběhl normálně. Nejčastěji postižená plemena jsou trpasličí a toy pudl, kokršpaněl, malí knírači, labradoři. Mezi další postižená plemena patří tibetský španěl, trpasličí jezevčici či tibetští teriéři. Řada jiných plemen je v současné době intenzivně zkoumána v rámci podezření, že se u nich GPRA vyskytuje. Problémy se zrakem se objevují mezi 1. až 5. rokem života v závislosti na plemeni a ke kompletní ztrátě zraku dochází v průběhu následujících maximálně čtyř let. Velmi častým doprovodným nálezem je katarakta (Gelatt, 2007).

Ve Spojeném království jsou touto oční vadou nejčastěji postižena plemena anglický kokršpaněl, jezevčík dlouhosrstý, pudl toy, trpasličí pudl a také labradorský retrívr (Crispin, 2005).

V případě CPRA se jedná o mnohočetná ložiska akumulovaného pigmentu na sítnici s hyperreflexními ohraničenými oblastmi. Narozdíl od GPRA postihuje CPRA primárně vrstvu pigmentového epitelu (RPE), který je uložený pod fotoreceptorovou vrstvou. RPE zajišťuje odvod metabolických zplodin a likvidaci „opotřeбенých“ fotoreceptorů. Až v pokročilé fázi onemocnění se vlivem nefunkčního RPE poškozuje i fotoreceptorová vrstva. Předpokládá se, že na rozvoji onemocnění se mohou podílet vlivy prostředí, zejména nedostatek vitamínu E.

Jedná se o onemocnění oboustranné, s pomalejší progresí než u GPRA. Patrné změny ve vidění se objevují až v době rozvinutého onemocnění. Mezi první příznaky patří zhoršené vidění ve dne a dále zhoršené vidění stacionárních objektů. Pohybující objekty vidí pacient bez problémů. Důvodem je, že primární změny na sítnici jsou v její centrální části. Katarakta je spíše vyjímečná a k oslepnutí dochází jen u části pacientů. Mezi postižená plemena patří například americký kokršpaněl, špringlšpaněl, kolie, retrívr nebo velškorgi (Gelatt, 2007).

Crispin (2005) popisuje nejčastější výskyt této formy onemocnění u plemene briard, anglický kokršpaněl, zlatý retrívr, labradorský retrívr, polský nížinný ovčák a u všech plemen kólií.

Gelatt (2000) dále uvádí, že v posledních letech bylo dosaženo velkého pokroku v diagnostice PRA na buněčné i molekulární úrovni a v současné době se využívá posuzování genů k diferenciaci typů onemocnění.

Petersen-Jones (1998) přímo popisuje, že postup v molekulární genetice již umožňuje identifikaci genové mutace způsobující časnou formu PRA a to bezpečně u plemene Irský setr. Vývoj v mapování genomu psů přinesl objev markerů, které umožňují předběžné mapování genu pro PRA. Díky tomu je možné diagnostikovat nejběžnější formu PRA u pudlů, kokršpanělů, labradorských retrievrů a do budoucna i u dalších plemen.

Kijas et al. (2003) označují PRA jako heterogenní skupinu dědičných očních chorob běžnou u psů i u lidí. Více než sto plemen psů je postiženo některou formou retinální degenerace a proto je tento živočišný druh vhodný k sestavení genetického modelu, dle kterého budou vědci v budoucnu schopni identifikovat genetické determinace očních chorob vyskytujících se taktéž u lidí.

Petersen-Jones (2005) charakterizuje PRA, tzv. psí ekvivalent souboru genetických očních poruch vedoucích k šerosleposti u lidí jako nejběžnější dystrofii. Studie těchto dystrofií u psů poskytly užitečné informace o ekvivalentních lidských očních chorobách. V nedávné době bylo využito specifické genové terapie k obnovení zraku u psů. Takové vědecké studie jsou velmi prospěšné a důležité k vývoji obdobných postupů v terapii očních chorob u lidí.

2.2.1.1. Klinické příznaky a oftalmoskopické změny pozorované u PRA

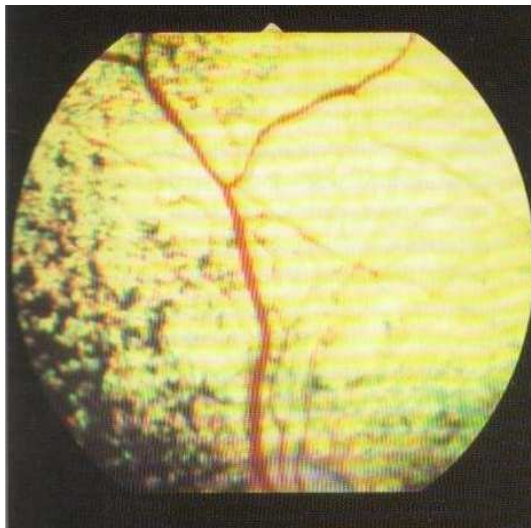
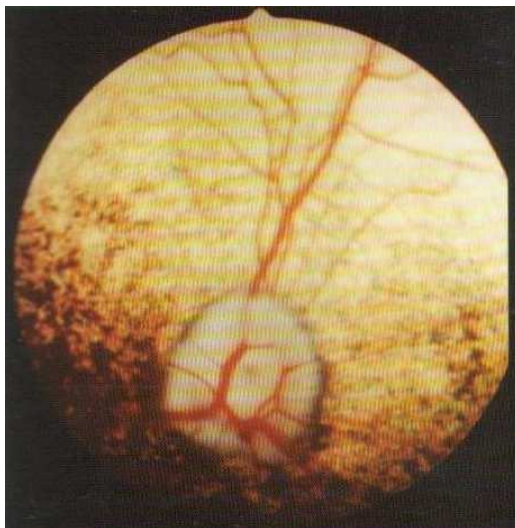
Klinické příznaky jsou variabilní – v počátečním stádiu šeroslepost (neschopnost vidět ve špatně osvětlených prostorách). Zorničky (pupily) jsou často rozšířené a majitelé zaznamenávají zakalení a zesvětlení očí důsledkem katarakty v pokročilých stádiích. U všech postižených psů dochází v pokročilém stádiu k úplnému oslepnutí. Tato doba se u jednotlivých psů liší, ale většinou trvá minimálně šest měsíců od diagnózy onemocnění. V malém počtu případů se může prodloužit i na několik let (McCalla, 2001).

Při oftalmoskopii lze v časném stádiu choroby pozorovat snížení reflektivity, či šedavě zbarvené skvrny na periferii očního pozadí. Mírné zeslabení cév na středu a periferii očního pozadí je také často pozorováno.

V mírně pokročilém stádiu se změní zbarvení očního pozadí. Je zde více skvrn a ohraničení, cévy jsou zeslabené. Je pozorována zvýšená reflektivita nebo hyperreflektivita na očním pozadí, lehce snížená pigmentace. Zrakový nerv se mění včetně počáteční ztráty myelinu, optický disk mění tvar na kruhový a snižuje se počet krevních cév. Dochází k rané atrofii (Gelatt, 2000).

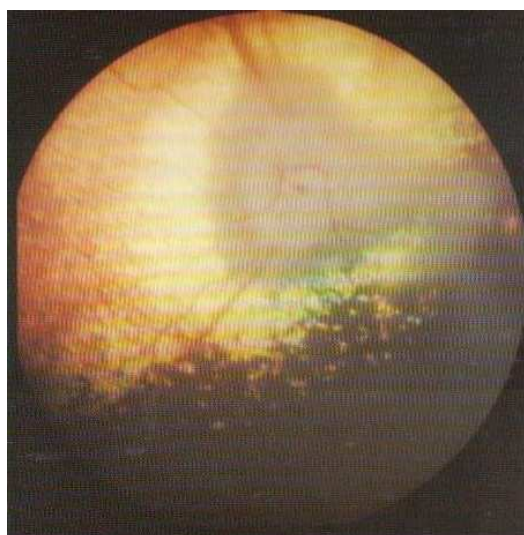
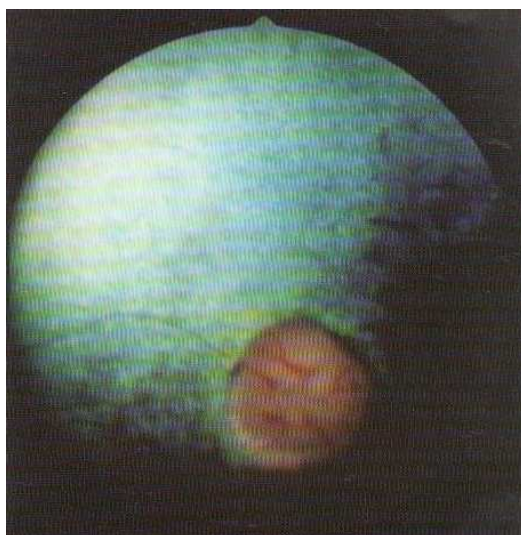
U pokročilého stádia generalizované formy PRA lze očekávat výskyt sekundární katarakty a často také atrofii očního nervu (Crispin, 2005).

Obrázek 1. Oftalmoskopické změny pozorované u PRA.



Progresivní retinální atrofie – 2. stádium. Bledý disk, hyperreflexní tapetum se ztrátou zrnitosti, mizí tenké cévy a větší cévy se zužují.

Progresivní retinální atrofie – 3. stádium. Úplné vymizení malých cév, velké cévy výrazně redukovány



Progresivní retinální atrofie – 4. stádium. Vymizení všech cév s výjimkou drobných cév na disku.

Progresivní retinální atrofie – změny na disku. Světlý, neostře ohraničený disk s výrazně redukovanou vaskularizací.

(zdroj Kottman et al., 2003)

Gelatt (2000) charakterizuje pokročilé stádium PRA obecně hyperreflektivitou projevující se na celém očním pozadí, postupnou ztrátou pigmentace a výrazně sníženým krvením sítnice. Zřetelně viditelné jsou pouze centrální a největší krevní cévy a to až do velmi pozdního stádia choroby. K atenuaci (zeslabení až vymizení) cév dochází nejdříve na periférii sítnice), optický disk je bledý, je pozorována výrazná ztráta myelinu a redukce velikosti optického disku.

2.2.1.2. Studie výskytu oční vady PRA

Chaudieu (2001) uvádí ve své studii výskytu PRA u plemene border kolie následující informace. Do studie bylo zahrnuto 161 jedinců s podezřením na nespecifikovanou oční vadu. Z toho 74 fen a 87 psů. Všichni jedinci byli podrobni oftalmologickému vyšetření – nepřímé oftalmoskopii s použitím fluorescinu. U 33 psů (2 feny a 31 psů) byly diagnostikovány léze na sítnici. Věk zvířat při vyšetření se pohyboval od 6 měsíců do 9 let, v průměru tedy 3,5 roku. Bilaterální léze byly objeveny u 23 psů, zbylých 10 mělo léze pouze na jednom oku. V případě diagnózy bilaterálních lézí byl průměrný věk psů stanoven na 3,75 let. Na základě tohoto zjištění, kdy bylo prokázáno poměrně vysoké procento pozitivních nálezů (cca 34%), autor doporučuje preventivní oftalmologické vyšetření u plemene border kolie každoročně od 1 do 7 let věku.

2.2.2. Dysplazie sítnice (RD)

Pojem “dysplazie sítnice” zahrnuje větší množství vrozených změn, které během embryonálního vývoje vznikly následkem nedostatečného a nepravidelného růstu tkáně. Lze ji charakterizovat jako retinální záhyby, které pozorujeme jako šedobílé řasy a vyvýšení na netapetálním fundu a jako šedo zelené hyperreflektivní řasy v tapetálním fundu. Ve většině případů se jedná o autozomálně recesivní dědičné změny. Retinální dysplazie je dědičně podmíněná u sealyham teriérů, u amerických i anglických kokršpanělů, u labradorských retrievrů, bíglů, rotvajlerů, dobrmanů, samojedů a některých dalších plemen (Kottman et al, 2003).

Crispin (2005) zmiňuje, že mezi plemena často postižená touto oční chorobou patří také anglický špringršpaněl, kavalír king charles španěl, nebo maďarský puli. Dále popisuje

tzv. geografickou formu retinální dysplázie, která se ve Spojeném království nejčastěji vyskytuje u plemen kavalír king charles španěl, zlatý retrívr a labradorský retrívr.

2.2.2.1. Formy retinální dysplázie a jejich příznaky

Kottman et al. (2003) rozděluje RD na formu generalizovanou nebo fokální a multifokální. Nejtěžší forma je generalizovaná RD, která vždy vede k úplnému oslepnutí, může být unilaterální nebo bilaterální. U takto postižených psů je zjištěna totální ablace sítnice, ale také často zkapalněný sklivec a případně i další oční anomálie, např. mikroftalmus.

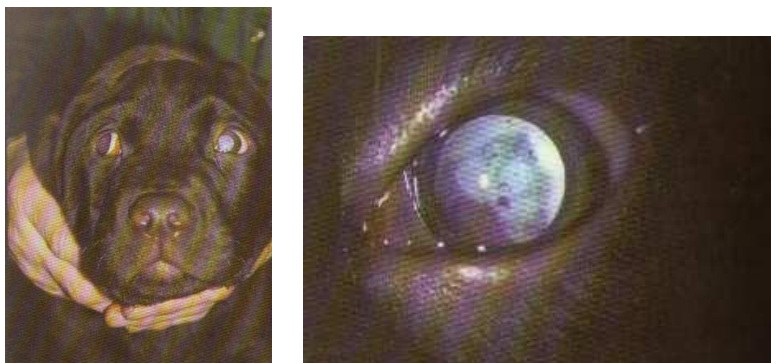
Fokální a multifokální forma RD se vyznačuje klinicky nenápadnými změnami, zpravidla není ovlivněna kvalita zraku. U fokální formy dochází k tzv. zvrásnění sítnice.

Crispin (2005) uvádí, že v případě multifokální RD, lze v některých případech geografické formy MRD pozorovat krváceniny z cév na sítnici. Multifokální léze je také třeba odlišit od lézí vzniklých po zánětlivých procesech cévnatky a sítnice. Léčba v současné době není možná a jedinou účinnou prevencí je vyšetření očí nejlépe v ranném věku štěňat – u chovatele v rámci celého vrhu.

Gelatt (2007) poukazuje na vysoký výskyt záhybů sítnice u štěňat některých plemen (krátkosrstí kolie, šeltie), který může být interpretován jako retinální dysplazie. Tyto záhyby však zmizí současně s tím, jak roste štěněcí oko. Nález je vysvětlován jako nekoordinovaný růst vnitřní a vnější vrstvy optického pohárku (embryologický základ struktur oka). U zvířat, která jsou RD pozitivní zůstává nález přítomný i v dospělosti

Obrázek 2. Retinální dysplazie u štěněte labradorského retrívra.

Odchlípená sítnice je lokalizována za čočkou. Štěně je na obě oči slepé.



(zdroj Crispin, 2005)

2.2.2.2. Studie výskytu oční vady RD

Aguirre et al. (2001) publikoval svou studii retinální dysplazie založenou na genetické analýze 436 vzorků DNA, získaných od klinicky zdravých irských setrů a dalších psů 23 různých plemen. Studie byla provedena v letech 1994 – 1997 a přinesla výsledek, který vypovídal o tom že 7,8% irských setrů bylo označeno jako “Carrier” – heterozygot – klinicky zdravý jedinec, ale nositel alely pro přenos genetické oční vady. Stejná mutace genu nebyla nalezena u žádného příslušníka ostatních plemen. Vzhledem k tomu, že někteří testovaní setři byli v blízkém příbuzenském vztahu, není tento vzorek považován za reprezentativní pro celou populaci plemene.

2.2.3. Katarakta – zákal čočky

Kataraktu lze charakterizovat jako jakoukoliv poruchu průhlednosti čočky. Vyskytuje se u všech druhů zvířat včetně ptáků, nejčastěji u psů a u koní. Protože zakalená čočka má šedobílou barvu, běžně používaným názvem pro tento stav je „šedý zákal.“ Katarakta vzniká v kterémkoliv místě čočky, kde je porušena látková výměna a tkáňové dýchání. Mění se tím koloidně chemické vlastnosti čočky, lamely se rozpadají a produkty tohoto procesu se neresorbují, ale zůstávají deponovány v místě destrukce. Stejná ztráta průhlednosti vzniká, je-li pouzdro čočky poškozeno nebo se z nějaké příčiny stane permeabilním pro komorový mok (Kottman et al, 2003).

Katarakty je možno klasifikovat z různých hledisek a je znám velký počet jejich typů. Genetického původu je pouze několik. Vrozený zákal čočky vzniká v průběhu fetálního vývoje a lze ho pozorovat ihned po narození. Jako primární onemocnění se vrozená katarakta vyskytuje velmi zřídka. Ve většině případů katarakta provází jiné anomálie očí, jejichž příčinou jsou intrauterinní záněty, toxické, metabolické, infekční nebo fyzikální vlivy. U některých plemen psů se však zákaly tohoto druhu vyskytují dědičně, např. basenji, anglický kokršpaněl, bígl, dobrman, samojed, bobtejl, akita nebo labradorský retrívr. Protože malé, ohraničené zákaly nemusí být vážnou překážkou a klinicky se u zvířete žádná porucha zraku neprojeví, mohou být odhaleny až jako náhodný nález při oftalmologickém vyšetření (Kottman et al, 2003).

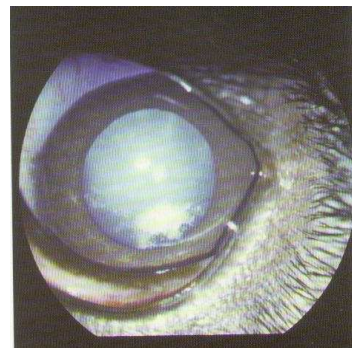
Adkins, Hendrix (2003) charakterizují katarakty jako opacity čočky, které zasahují buď menší část nebo úplně celou čočku. V mnoha případech vedou k úplnému oslepnutí psů a mohou být způsobeny genetickými faktory, metabolickou poruchou, zánětlivým procesem

nebo jinou příčinou. V určitých případech lze vyřešit chirurgickým zákrokem na oční čočce – tzv. fakoemulsifikací. Po tomto zákroku v některých případech může dojít k určitým komplikacím, mezi které lze zahrnout zvýšený nitrooční tlak, glaukom, odchlípení sítnice či panoftalmitis - zánět všech struktur oka.

Kottman et al. (2003) dále popisuje u psů značně prostudovaný **hereditární (dědičný) zákal čočky** s pozdní manifestací - cataracta juvenilis. K rozvoji tohoto typu katarakty dochází nejčastěji ve věku 6 měsíců až 2 let. Zpravidla se jedná o bilaterální proces a může vézt až k úplnému oslepnutí. Chirurgická terapie zde bývá velmi úspěšná. Mezi postižená plemena patří zlatý i labradorský retrívr, rotvajler, sibiřský husky, anglický kokršpaněl, malý knírač, americký kokr, bulteriér či dobrman.

Crispin (2005) dělí hereditární kataraktu na dva typy – primární a sekundární. Primární katarakta nebývá spojená s jinou předcházející oční vadou a je u psů relativně běžnou formou. Sekundární katarakta vzniká ve spojení s jinou závažnou oční vadou jako je PRA, RD či luxace čočky.

Obrázek 3. Katarakta při současném výskytu oční vady PRA (vlevo) a Hereditární katarakta u mladého psa.



(zdroj Kottman, et al., 2003)

2.2.3.1. Studie výskytu katarakty u psů

Kraijer-Huver et. al. (2008) pojednává o studii zaměřené na výskyt několika typů katarakty u labradorských retrívrů v Nizozemí. Specialisté vyhodnotili oftalmologická vyšetření na základě záznamů veterinárních oftalmologů v letech 1977 – 2005. K dispozici měli 522 výsledků na pozitivní hereditární kataraktu vyskytující se bilaterálně nebo unilaterálně a to bez diagnostikované oční vady PRA, a dále 166 pozitivních psů s kataraktou, u kterých byla zároveň diagnostikována oční vada PRA. Katarakta diagnostikovaná u psů bez

PRA byla rozdělena do tří typů – posteriorní katarakta, extensivní nezralá a zralá katarakta a smíšená katarakta. Psi s diagnostikovanou PRA oční vadou byly vyhodnoceni odděleně. Výsledky prokázaly, že v letech 1980 – 2000 byl výskyt hereditární katarakty stabilní kolem 8 %. U potomstva těchto pozitivních jedinců byl jednoznačně prokázán vyšší výskyt hereditární katarakty, než u potomstva zdravých jedinců. Psi s posteriorní kataraktou plodí potomstvo postižené stejným typem katarakty jako celá populace zasažená hereditární kataraktou. Tato forma onemocnění je tedy spojená (příbuzná) s ostatními typy. Podrobnější analýzy této složité genetické oční vady budou předmětem dalšího výzkumu.

Madany (2003) popisuje výzkum zahrnující 125 psů různých plemen s příznaky katarakty. U 12 psů z této skupiny byla diagnostikována juvenilní katarakta. Psi byly v době vyšetření ve věku 4 měsíce až 3 roky, obou pohlaví, čistokrevných plemen a kříženců. Všichni byli podrobeni klinickému a oftalmologickému vyšetření. Klinické vyšetření potvrdilo hereditární kataraktu specifickou pro dané plemeno, juvenilní hereditární kataraktu a kataraktu spojenou s jinými genetickými očními vadami. Oftalmologické posouzení poskytlo podrobné rozlišení změn na čočce specifické pro různé typy katarakty. Nejčastěji diagnostikovaná forma v této studii byla katarakta vzniklá traumatizací oka po zánětlivém procesu (50%), hereditární katarakta (33,3%), a nakonec katarakta specifická pro dané plemeno (16,6%), která se nejčastěji objevila u zlatých retrívrů. Rutinní klinické a oftalmologické postupy byly vyhodnoceny jako dostatečné metody pro posouzení různých typů katarakty objevujících se u mladých psů.

Gelatt, MacKay (2005) prezentují studii provedenou veterinárními pracovišti v Severní Americe v letech 1964 – 2003. Tato retrospektivní studie všech psů, kteří byli v uvedených letech do studie zařazeni, zahrnuje různé dekády, plemena, pohlaví a věk zvířat při vyšetření. V letech 1964 – 1973 byl výskyt katarakty stanoven na 0,95% v dané populaci. V letech 1974 – 1983 to bylo 1,88 %, následně v letech 1984 – 1993 to bylo 2,42 % a v poslední dekádě 1994 – 2003 již 3,5 % postižených psů. Celková čísla vyjadřují, že během těchto čtyřiceti let bylo diagnostikováno 39 229 případů katarakty u psů. Od roku 1964 do roku 2003 se výskyt různých typů katarakty v této populaci pacientů zvýšil o 2,55 %. U 55 plemen psů byly různé formy katarakty diagnostikovány. U kříženců bylo procento nálezu stanoveno na 1,61%. Plemena, která byla vyhodnocena jako nejvíce zatížena touto genetickou oční chorobou jsou foxterier drsnosrstý (11.70 %), havanský psík (11.57 %), bišon (11.45 %), bostonský teriér (11.11 %), pudl trpasličí (10.79 %), australský silky teriér (10.29 %) a pudl

toy (10.21%). Porovnání výsledků v rámci pohlaví bylo možné jenom u některých plemen a výsledek tedy není prokazatelný. Věk při objevení prvních příznaků je také variabilní v závislosti na plemeni, vyšší procento výskytu choroby bylo zaznamenáno ve věku 4 – 7 let. Katarakta je jednou z nejčastějších genetických očních chorob. Pro čistokrevná plemena byl stanoven průměrný výskyt v populaci na 16,8 % a to však u psů ve věku 7 – 15 a více let. V celkovém hodnocení katarakty vědci dospěli k názoru, že výskyt této oční vady vzhledem k zvyšujícímu se věku je naprosto srovnatelný s výskytem ekvivalentních očních chorob u lidí.

2.2.4. Anomálie oka kolii (CEA – Collie eye anomaly)

Gelatt (2000) charakterizuje CEA jako kongenitální (vrozený) oční syndrom, projevující se poruchou cévního a žilního systému na zadní stěně očního bulbu. Patogeneze choroby spočívá v abnormální mezodermální diferenciaci a je výsledkem méně či více závažné poruchy oční bělimy, očního disku, cévnatky, sítnice či cévního systému oční sítnice. Závažnost choroby je variabilní – od nezřetelného zrakového deficitu až po úplné oslepnutí. Jedná se o bilaterální defekt bez vztahu k pohlaví psa. Není zde žádná souvislost se zbarvením srsti ani s přítomností genu pro zbarvení merle. CEA postihuje krátkosrsté i dlouhosrsté kólie, šeltie, australské ovčáky a border kolie a jejich křížence. Jedná se o jednoduše autozomálně recesivně dědičnou chorobu. Výskyt je abnormálně vysoký u krátkosrstých a dlouhosrstých kolii, ale také u šeltií po celém světě.

Syndrom CEA zahrnuje 4 hlavní oftalmologické nálezy:

- choroidální hypoplazie (CH)
- kolobom optického disku
- částečná nebo úplná ablace (odchlípení) sítnice
- nitrooční krvácení (hyféma)

Ablace a hyféma mohou být přítomné jako komplikace velkého kolobomu. CH je dobře diagnostikovatelná ve věku 6-8 týdnů, později (cca od 3 do 7 měsíců) dochází k „zatažení“ a zapigmentování defektu a zvíře může být posouzeno jako zdravé a zařazeno do chovu. Z tohoto důvodu je třeba dbát na vyšetření štěňat v ranném věku. Hlavním (patognomickým) příznakem je hypoplazie cévnatky. Tento defekt stačí sám o sobě jako potvrzení oční vady CEA. V případě diagnostiky kolobomu disku se současně vyskytuje i chorioretinální hypoplazie (Gelatt, 2007).

Gelatt (2000) dále uvádí, že v roce 1969 bylo postiženo mezi 75 – 97 % kolii v USA, 64 % v Anglii, více než 50 % ve Švédsku a 41 % v Norsku. U šeltií je výskyt choroby také vysoký, ale podstatně se liší v jednotlivých zemích. U australských ovčáků a border kolii je procento výskytu poměrně nízké.

2.2.5. Kolobom

Kolobom (coloboma palpebrae) je vzácnou dědičnou anomálií očních víček. Je to vývojová porucha způsobující rozštěp víčka a klinicky se projevující pouze na části víčka, často bilaterálně na horním víčku zvířete. Může vést k zánětu rohovky a spojivek (keratokonjunktivitidě). Po traumatech očních víček může vzniknout tzv. získaný kolobom, který v určitých případech lze řešit chirurgicky (Svoboda et al., 2008).

2.2.6. Distichiasis

Distichíáza je vrozená vada, při níž vedle řady normálně uložených řas vyrůstá další řada řas z vývodů meibomských žláz nebo těsně za nimi. U psů bývá dědičně podmíněná u pudlů a kokršpanělů. Může být v podobě jemných světlých řas, které nemají klinický význam nebo jako tuhé tmavé řasy působící problémy jako jsou eroze a ulcerace rohovky. Bývají častou příčinou vředů vzdorujících terapii (Kottman et al., 2003).

2.2.7. Trichiasis

Trichiáza je vada, při níž z normálního místa vyrůstající řasa nebo více řas směřují svým volným koncem proti bulbu. Tento stav může vzniknout i v pozdějším období života, například při poranění víček. Dochází k němu také při entropiu. Dráždění rohovky vyvolává zvýšené mrkání a eroze na rohovce. Chirurgická terapie je u této oční vady většinou nevyhnutelná (Kottman et al., 2003).

2.2.8. Entropium

Entropium je vchlípení či vtočení očního víčka s následnou trichiázou. Jedná se o časté a geneticky fixované onemocnění a bývá důvodem k nezařazení jedince do plemenitby. Negativní dráždění rohovky a spojivky, které způsobují chlupy (řasy) na kůži vtočené dovnitř se projevuje zvýšeným slzením. U plemen psů, jako je zlatý retrívr, buldog, čau-čau nebo

rotvajler přicházejí první potíže mezi druhým měsícem a jedním rokem života. Choroba je většinou bilaterální a postihuje spodní víčka (Svoboda et al., 2008).

2.2.9. Ektropium

Ektropium je vychlípení či oddálení volného okraje očního víčka, jejímž důsledkem je zvýšená iritace rohovky a spojivek. Častěji se setkáváme s hereditárním výskytem vychlípeného víčka podle plemenné příslušnosti. U velkých plemen jako jsou zlatí retrívři, irský setr, německá doga aj., u kterých dochází k tzv. intermitentnímu fyziologickému ektropiu v souvislosti s únavou faciálních svalů. Ráno je víčko ve fyziologické poloze, v pozdních odpoledních hodinách dochází k vychlípení. Na žádost majitele lze zvážit terapii chirurgickou cestou. Metod je vypracována celá řada, liší se podle rozsahu a příčiny vzniku oční vady (Svoboda et al., 2008).

2.2.10. Luxace čočky

Luxaci čočky odlišujeme jako primární či jako sekundární - vznikající následkem glaukomu. K sekundární (sub)luxaci dochází v důsledku roztahování bulbu a praskání závěsného aparátu čočky. Klinické projevy jsou od iridodonesy a afakického půlměsíce v případě subluxe, po čočku patrnou v přední nebo zadní komoře, případně provazce sklívce v přední oční komoře při úplné luxaci (Kottman et al., 2003).

2.2.11. Microphthalmie

Málo častá je úplná absence očního bulbu. V případě pravé microphthalmie se jedná o abnormálně malý oční bulbus s kombinací několika různých očních vad postihujících oční rohovku, čočku, sklivec a sítnici. Schopnost jedince vidět na toto oko může být naprosto normální, snížená nebo je na něj zcela slepý. Mikrophthalmie spojená s perzistentní papilární membránou, kataraktou či retinální dysplázií je známa jako recesivně dědičné onemocnění u australských ovčáků. Jedná se o homozygotní psy ve zbarvení merle (Gelatt, 2000).

2.2.12. Ostatní genetické oční choroby

Atrezie punctum lacrimale, Perzistující pupilární membrána, Perzistující tunica vasculosa lentis a perzistující primární sklivec (PHTVL / PWHPV), Korneální dystrofie a Glaukom se nestaly předmětem výzkumu bakalářské práce. Jejich výskyt v chovu plemen pro

asistenční výcvik nebyl výrazně zaznamenán. Tyto vady se často vyskytují jako samostatné, některé z nich však provázejí jiné významné genetické oční choroby .

2.3. Metody diagnostiky očních chorob

2.3.1. Oftalmologické vyšetření

Oftalmologické vyšetření provádí veterinární lékař – oftalmolog - v tmavé místnosti. Metody vyšetření existují dvě – přímá a nepřímá oftalmoskopie.

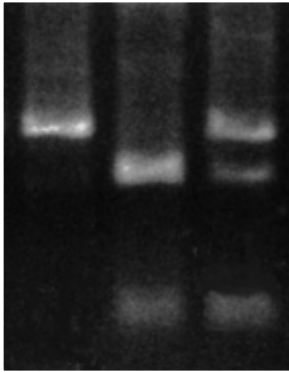
Dle Gelatta (2000) je přímá oftalmoskopie metoda výhodná z hlediska většího zvětšení (asi 15ti násobného). Přímý oftalmoskop musí být umístěn při vyšetřování maximálně 2 až 3 cm od oka psa, což vyžaduje velmi blízký kontakt vyšetřovatele a zvířete. Tato okolnost může vést k jistým komplikacím při vyšetření. Pokud se však oftalmolog vzdálí příliš, není schopen vyšetřit celé oční pozadí.

Svoboda et al., (2008) popisuje nepřímou oftalmoskopii jako metodu, při které se mezi oko vyšetřovatele a pacienta vkládá bikonvexní čočka o 10 – 30 dioptriích. Pro snadnost a rychlost je to metoda preferovaná k vyšetření rohovky, přední komory, čočky, sklivce a nejčastěji očního pozadí, paprskem oftalmoskopu z různých úhlů vzhledem k zornému úhlu vyšetřovatele. V porovnání s přímou oftalmoskopií lze vyšetřit podstatně větší oblast očního pozadí. Rutinně jsou používány monokulární nepřímé oftalmoskopy. Binokulární nepřímé oftalmoskopy umožňují stereoskopické vyšetření očního pozadí a jejich výhodou je volná ruka vyšetřovatele pro případnou fixaci pacienta či k otevření víčkové štěrbině. Vyšetření však vyžaduje zkušenost a k objektivnosti diagnostiky patologických stavů je důležitá možnost archivace nálezů (elektroretinografie či fundusfotografie). Toto je dnes důsledně dodržováno při vyšetření před zařazením jedince do chovu a nález je přikládán k dokladu o vyšetření.

2.3.2. Vyšetření na oční choroby prostřednictvím testu DNA

Test DNA je prováděn z malého vzorku krve, který odebere veterinární lékař a ve speciální zkumavce zašle do genetické laboratoře. Nezbytnou součástí je podrobně vyplněný formulář od majitele psa, kde je kompletní zpráva o původu zvířete a vzorek je vždy řádně označen, aby nemohlo dojít k chybě v identifikaci. Genetický test analyzuje specifickou

mutaci DNA, která je příčinou oční choroby. Detekuje mutace, abnormální genové kopie a normální genové kopie. Výsledkem testu je genotyp, podle kterého následně rozdělujeme psy do tří skupin: NORMAL/CLEAR - homozygot dominantní, CARRIER - heterozygot a AFFECTED - homozygot recesivní (www.optigen.com, 2008).



Whiteley (1997) uvádí, že existují dvě cesty jak vědci identifikují mutace způsobující genetické choroby. První je nalezení “homologních” genů, které jsou zodpovědné za stejná onemocnění u jiných živočišných druhů – např. u myši, krys nebo u člověka. Vědci využijí znalosti těchto genů, které jsou pro uvedené živočišné druhy společné, u psů je izolují a poté jsou schopni “dešifrovat” každé “písmeno” (kódování) celého chromozomu. V případě PRA u irských setrů byl tento gen nejprve identifikován u myši. Defekt se neobjevil na stejném “písmenu” (úseku kódu), ale u stejného genu a následně bylo prokázáno, že obě zvířata jsou postižena oční vadou PRA.

Přímý test spočívá v použití diagnostických enzymů (restrikčních enzymů), které jsou schopné rozpoznat část kódu v oblasti, kde dochází k mutaci od původních sekvencí DNA. Pokus lze pozorovat a vyhodnotit pod ultrafialovým světlem.

Pokud je zvíře prosté genové mutace, lze pozorovat pouze dva fragmenty DNA. Jestliže některý z chromozomů nese mutaci, pozorujeme tři fragmenty DNA, dva z původního chromozomu a třetí největší, který nebyl přeseknutý enzymem. Na přiloženém obrázku levý pruh obsahuje nepřeseknutý fragment DNA, zatímco prostřední a pravý pruh byl přeseknut enzymem, schopným rozeznat původní typ sekvencí. Střední pruh ukazuje dvě “linky,” od jedince, který je “CLEAR,” zatímco v pravém pruhu lze pozorovat tři – tento jedinec je “CARRIER.” Pes, který je označen jako AFFECTED, by se projevil jednou “linkou.”

Test vazeb – je založen na výskytu krátkých opakujících se sekvencí na každém chromozomu, které se nazývají “mikrosatelity” a stovky z nich byly izolovány v genomu psů jako nástroje k mapování genů. Tato metoda je velmi pracná a časově náročná. U zvířat označených jako “AFFECTED,” jsou obě kopie mikrosatelitů – každá z jednoho chromozomu - naprosto stejné a delší než původní. Naopak u zvířat označených “NON-AFFECTED,” jsou obě kopie kratší. Ovšem u jiné rodiny (skupiny příbuzných zvířat) to může být právě naopak

důsledkem rekombinace chromozomů. Z toho důvodu také není možné determinovat genotyp zvířat s naprostou jistotou. Přesnost bývá obecně stanovena na 95 – 99%.

(Mellersh, 2008) uvádí, že roce 2004 se pes stal pátým savcem jehož genom byl sestaven. Vědci doufají, že pomocí tohoto genomu se podaří lépe porozumět evolučním mechanismům, které ztvárnily geny a genomy a tak bude možné identifikovat genetické faktory ovlivňující dědičné choroby, které mají psi i lidé společné.

Whietelely (1997) se domnívá, že v budoucnu bude možné testovat genetickými testy DNA většinu dědičných chorob u psů. Důležitý je přístup chovatelů, kteří musí nakládat s výsledky těchto testů s jistou opatrností, řádně rozhodovat o chovatelských programech a krytí s ohledem na zachování diverzity každého plemene. V případě recesivně dědičných chorob, pokud je tzv. CARRIER spojen se zdravým jedincem tzv. CLEAR (NORMAL), žádné ze štěňat se nenarodí nemocné “AFFECTED,” ale je tu samozřejmě 50 % pravděpodobnost, že se některá štěňata narodí jako “CARRIER” a ponесou gen do další generace. V každém případě víme, že zde zároveň existuje 50 % šance na klinicky i geneticky naprosto zdravé potomstvo.

3. Metodika zpracování dat

3.1. Možnosti testování dle věkových kategorií

1. Období před zařazením do předvýchovy – 6-8 týdnů věku štěňat – je z ekonomického hlediska výhodné období pro vyšetření na genetické oční choroby. V tomto věku jsou selektována štěňata s pozitivním nálezem, která nebudou nikdy zařazena do předvýchovy a jsou věnována soukromým zájemcům. Eliminují se tak náklady na jejich krmení, ošetřování a péči v rodině předvychovatele. Oftalmologické vyšetření v tomto věku je však opravdu efektivní u plemen kólií. U ostatních plemen je ideální doba pro diagnostiku očních chorob oftalmologickým vyšetřením ve věku 9 - 12 měsíců, před zařazením do výcviku.

2. Období před zařazením do výcviku – přibližně od 9 do 12 (až 18) měsíců věku psa – je v České republice obvyklým obdobím, kdy výcvikové organizace nechají provést kontrolu genetických očních chorob veterinárním oftalmologem. Psi, u kterých je nález pozitivní, jsou nabízeni přednostně svým předvychovatelům, případně dalším zájemcům. Každý z nich je vybaven lékařskou zprávou dokládající diagnózu, se kterou se jeho majitel bude s velkou pravděpodobností ve vyšším věku psa potýkat. Tito psi nebudou nikdy vystaveni zátěži, kterou práce vodících (asistenčních) psů přináší a výcviková centra eliminují náklady na výcvik, který by v jejich případě nepřinesl požadované výsledky.

3. Období v průběhu výkonu práce vodícího (asistenčního) psa – od ukončení výcviku do seniorského věku – je obdobím, ve kterém se psi testují většinou na žádost majitele, jemuž slouží jako věrní pomocníci. Důvodem k vyšetření na genetické oční choroby bývají příznaky poruchy zraku u psů, kteří byli zařazení do výcviku před více než třemi lety, kdy se vyšetření na oční vady nepřikládalo ještě tak velký význam. V určitém procentu případů se však může přihodit, že i pes vyšetřovaný před výcvikem v průběhu několika příštích let projeví známky některé dědičné oční choroby.

3.2. Testování psů prostřednictvím oftalmologického vyšetření

V České republice je tento způsob vyšetření na genetické oční choroby v současné době nejběžnější volbou výcvikových organizací. Budoucí asistenční psi zařazení do bakalářské práce byli v případě MVDr. Lenské vyšetřeni prostřednictvím přímé oftalmoskopie.

K dosažení mydriázy bylo použito krátkodobě působící mydriatikum (Mydrum). Vyšetření bylo možné provést za minimálně 15 minut od první aplikace mydriatika. V případě nedostatečné mydriázy byla aplikace opakována. K vyšetření byla použita štěrbinová lampa Kowa – Slit Lamp SL15 a funduskamera Kowa Genesis (Lenská, 2009, pers. comm.).

3.3. Veterinární osvědčení

Veterinární lékař, který vlastní speciální oprávnění udělené Komorou veterinárních lékařů, vydává oficiální atest. Na základě výsledku vyšetření vystaví každému zvířeti certifikát (osvědčení) o vyšetření na genetické oční choroby. S tímto certifikátem je následně asistenční pes s negativním výsledkem zařazen do výcviku a po jeho dokončení předán majiteli včetně všech svých zdravotních osvědčení, mezi které certifikát patří. Platnost osvědčení je však časově omezena a specifikována v závislosti na plemenné příslušnosti zvířete. Skupina testovaných psů zahrnutá v této bakalářské práci byla vyšetřena MVDr. Lenskou, MVDr. Beránkem a MVDr. Gbelcem.



Zdroj: SVVP Jinonice

4. Statistické vyhodnocení

4.1. Kontrolovaná skupina psů

Do studie bylo zařazeno 158 psů vybraných pro speciální vodící či asistenční výcvik v letech 2006 – 2008. Podklady ke zpracování byly získány od tří českých výcvikových organizací, které nechávají vyšetřovat své psy veterinárními oftalmology pravidelně před zařazením každého z nich do vlastního výcviku. Kromě věku při vyšetření byly sledovány následující proměnné: plemeno, pohlaví, nález při vyšetření a v případě pozitivního nálezu také typ genetické oční vady. Prověřeno bylo 99 labradorských retrievrů, 44 zlatých retrievrů, 1 kříženec těchto dvou plemen, 2 border kolie a 12 německých ovčáků.

4.2. Statistické výpočty

Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí statistického programu SPSS verze 16.0.

Pro přehledný popis analyzovaných dat byly stanoveny četnosti jednotlivých proměnných a následně vyjádřeny prostřednictvím kontingenčních tabulek relativních a absolutních četností.

U kategoriálních proměnných jsou četnosti zjišťovány pro všechny takové dvojice kategorií, kdy jedna kategorie z dvojice přísluší první proměnné a druhá kategorie druhé proměnné. Takto dostáváme dvourozměrnou tabulku četností – tzv. kontingenční tabulku, z jejichž hodnot můžeme soudit na závislost či nezávislost mezi dvěma kategoriálními proměnnými.

K vyhodnocení sledovaných znaků byl zvolen Chí-kvadrát test – základní test používaný k zjišťování vzájemné závislosti dvou kategoriálních znaků.

$$\chi^2_P = n \sum_{i=1}^R \sum_{j=1}^S \frac{(p_{ij} - p_{i+} p_{+j})^2}{p_{i+} p_{+j}}$$

Pro sledování intenzity závislosti jsou používány koeficienty, které nabývají hodnot v intervalu (0;1) případně (-1;1) přičemž hodnota 0 znamená nezávislost (Řezanková, 2007).

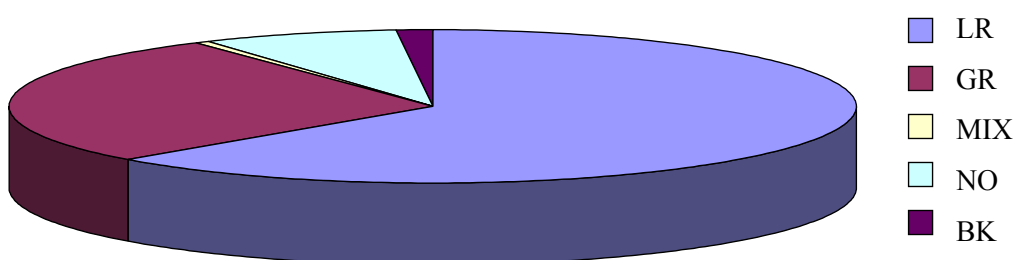
Tabulka č. 1 a graf 1 vyjadřují, která plemena psů byla v letech 2006 - 2008 vyšetřena na genetické oční choroby v českých výcvikových centrech. Z následujících ukazatelů také lze vyčíst, jaké bylo procentuální zastoupení plemen ve skupině.

Tabulka č. 1: Vybraná plemena psů

		absolutní četnost	relativní četnost(%)
vybraná plemena psů	LR	99	62.7
	GR	44	27.8
	mix	1	0.6
	NO	12	7.6
	BC	2	1.3
	celkem	158	100.0

Zdroj: (vlastní výpočty)

Graf 1. Zastoupení plemen v kontrolované skupině psů



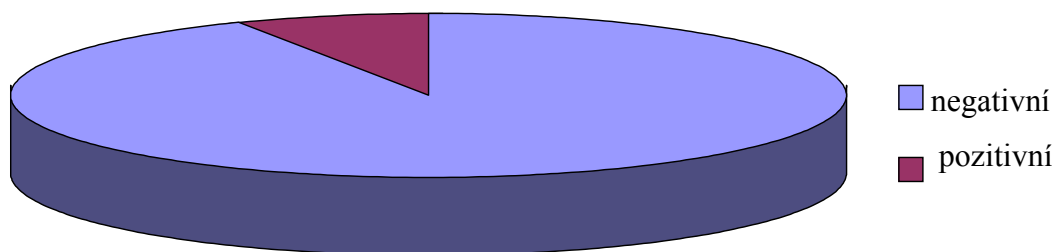
Následující tabulka číslo 2. a současně graf 2 znázorňují rozložení skupiny podle nálezu při oftalmologickém vyšetření. Pozitivní nález představuje skupinu psů postižených některou z diagnostikovaných očních chorob.

Tabulka č. 2: Nález při oftalmologickém vyš.

		absolutní četnost	relativní četnost(%)
výsledek nálezu	negativní	146	92.4
	pozitivní	12	7.6
	celkem	158	100.0

Zdroj: (vlastní výpočty)

Graf 2. Rozdělení sledované skupiny dle nálezu při oftalmologickém vyšetření



V tabulkách číslo 3. a číslo 4. je vyjádřeno zastoupení psů a fen v kontrolované skupině a nález u obou pohlaví. Je zcela zřejmé, že počet fen byl několikanásobně vyšší než počet psů. Jak tedy vyplívá i z grafu 3, procento pozitivních nálezů u psů je z toho důvodu velmi nízké.

Tabulka č. 3.: Zastoupení pohlaví ve sledované skupině

		absolutní četnost	relativní četnost(%)
pohlaví	fena	121	76.6
	pes	37	23.4
	celkem	158	100.0

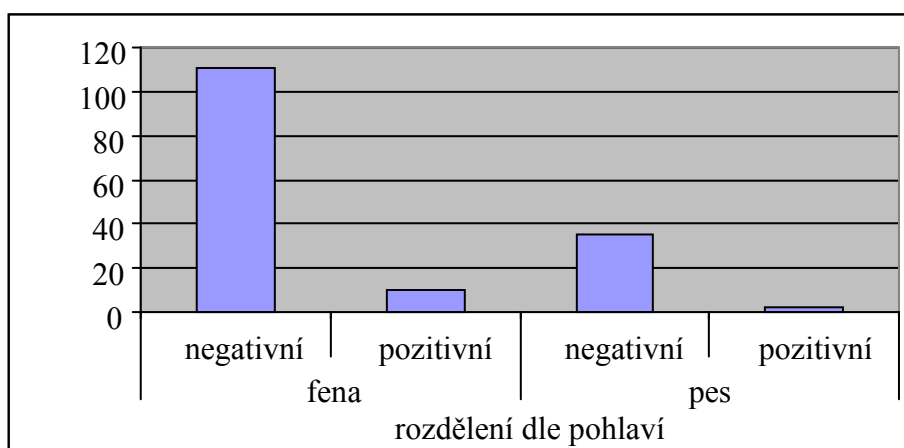
Zdroj: (vlastní výpočty)

Tabulka č.4: Četnost nálezů v rámci pohlaví

pohlaví			absolutní četnost	relativní četnost (%)
fena		negativní	111	91.7
		pozitivní	10	8.3
		celkem	121	100.0
pes		negativní	35	94.6
		pozitivní	2	5.4
		celkem	37	100.0

Zdroj: (vlastní výpočty)

Graf 3. Porovnání výskytu očních chorob v rámci pohlaví



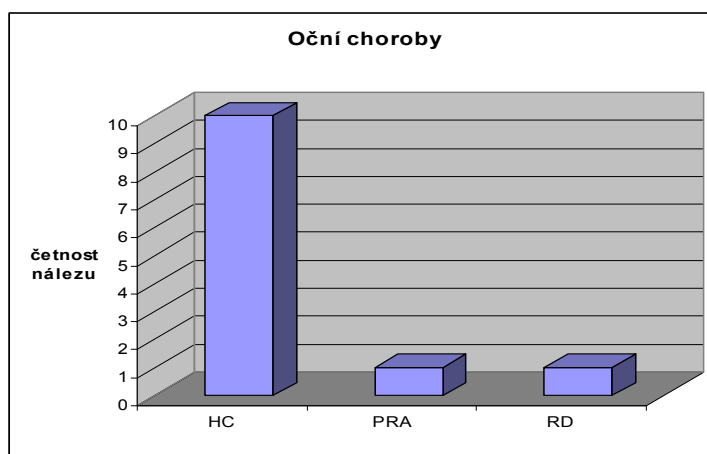
V kontrolované skupině psů byly diagnostikovány tři genetické oční choroby. Progresivní retinální atrofie (PRA), Retinální dysplazie (RD) a Hereditární katarakta (HC). Četnost nálezů jednotlivých chorob v rámci celé skupiny je vyjádřena v tabulce číslo 5. a v grafu 4.

Tabulka č. 5: Diagnostikované oční choroby

		absolutní četnost	relativní četnost(%)
oční choroby	HC	10	6.33
	PRA	1	0.63
	RD	1	0.63
	celkem	12	7.6
zdraví psi		146	92.4
celkem vyšetření		158	100.0

Zdroj: (vlastní výpočty)

Graf 4. Porovnání četností výskytu očních chorob ve sledované skupině psů



Z výsledků vyšetření je patrné, že PRA a RD byly diagnostikovány pouze u plemene s největším zastoupením ve skupině. Statisticky je tento nález málo významný.

Tabulka č. 6: Četnost nálezů u jednotlivých plemen psů

plemeno		absolutní četnost	relativní četnost (%)
LR	negativní	92	92.9
	pozitivní	7	7.1
	celkem	99	100.0
GR	negativní	39	88.6
	pozitivní	5	11.4
	celkem	44	100.0
ostatní	negativní	15	100.0

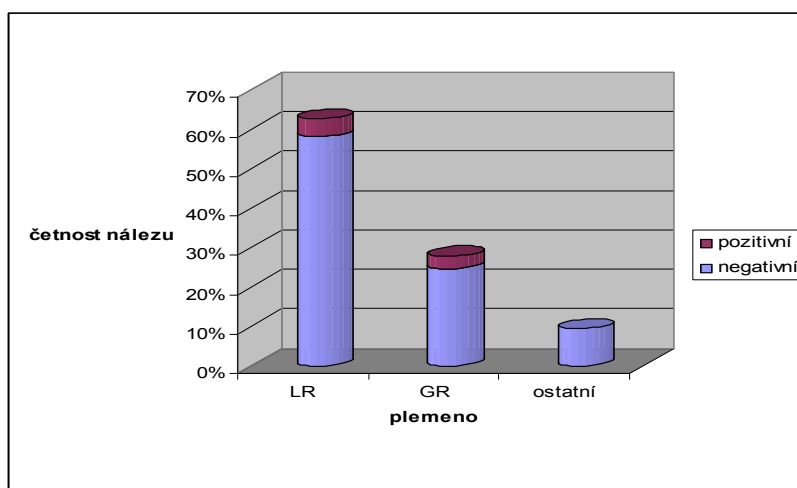
Zdroj: (vlastní výpočty)

Tabulka č. 7. Souhrnné vyjádření relativních četností výskytu očních vad v kontrol. skupině

plemeno	nález		
	negativní	pozitivní	celkem
LR	58,20%	4,40%	62,70%
GR	24,70%	3,20%	27,80%
ostatní	9,50%		9,50%
celkem	92,40%	7,60%	100,00%

Zdroj: (vlastní výpočty)

Graf 5. Relativní četnosti nálezu v kontrolované skupině



V tabulce číslo 6. je vyjádřeno, že oční choroby byly diagnostikovány pouze u dvou plemen psů zařazených do asistenčního výcviku. Skupina "ostatní" je tvořena třemi plemeny, která byla zastoupena v malém počtu a pozitivní nález v tomto souboru jedinců nebyl zaznamenán. Relativní četnosti nálezů lze zhodnotit z tabulky číslo 7. a v grafu 5.

Tabulka č. 8: Výskyt oční vady u plemen retrívrů

	oční vada				
		HC	PRA	RD	celkem
plemeno	LR	5	1	1	7
	GR	5	0	0	5
	celkem	10	1	1	12

Zdroj: (vlastní výpočty)

Tabulka číslo 8. vyjadřuje četnosti výskytu tří genetických očních chorob u plemen labradorský retrívr a zlatý retrívr, u kterých byly oční choroby diagnostikovány.

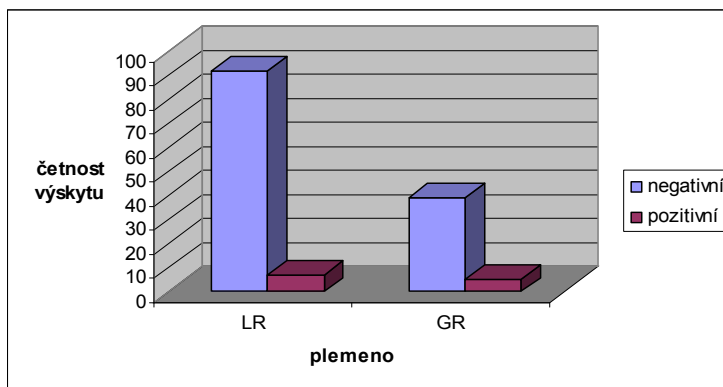
Tabulka č. 9. Relativní četnosti výskytu očních vad u plemen retrívrů

		nález	
		negativní	pozitivní
plemeno	LR	64,3%	4,9%
	GR	27,3%	3,5%
	celkem	91,6%	8,4%

Zdroj: (vlastní výpočty)

Následující graf 6. slouží pro porovnání velikosti souboru retrivřů s negativním a pozitivním výsledkem vyšetření na oční vady. Je patrné, že zlatí retrivři, kterých bylo vyšetřeno početně méně, jsou co do relativní četnosti výskytu zatíženi oční vadou více.

Graf 6. Četnosti výskytu očních vad u plemen retrivřů

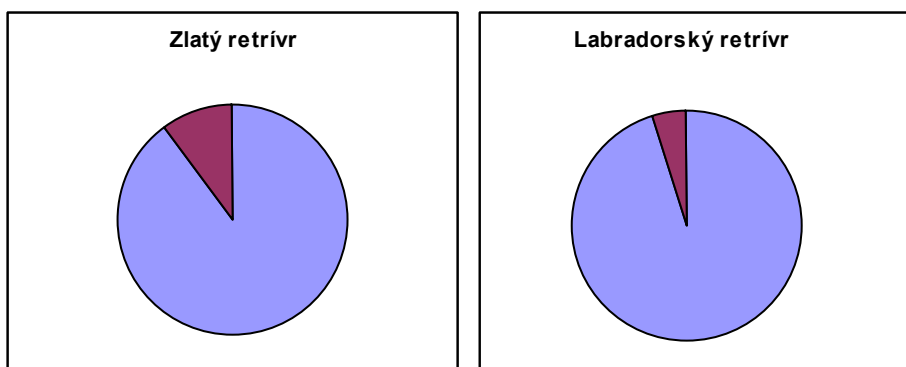


Tabulka č. 10. Výskyt hereditární katarakty u plemen retrivřů

plemeno	počet	pozitivní	% pozitivních
LR	99	5	5,05%
GR	44	5	11,36%
celkem	143	10	6,99%

Zdroj: (vlastní výpočty)

Graf 7. Četnost výskytu hereditární katarakty u plemen retrivřů



Tabulka číslo 10. a graf 7 slouží pro znázornění absolutních a relativních četností výskytu oční vady hereditární katarakta, která byla v kontrolované skupině nejčastěji diagnostikována.

4.3. Porovnání kontrolované skupiny psů s výsledky v populaci stejných plemen v ČR

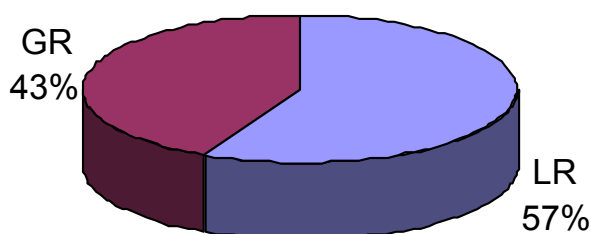
Tabulka I. a graf I. vyjadřují rozdělení porovnávací skupiny dle plemen. Vzhledem k tomu, že v kontrolované skupině budoucích asistenčních psů byly oční vady diagnostikovány pouze u labradorských retrívrů a zlatých retrívrů, byly porovnány dostupné výsledky vyšetření stejných plemen.

Tabulka I. Rozdělení skupiny psů dle plemene

plemeno	absolutní četnost	relativní četnost (%)
LR	110	57,30%
GR	82	42,70%
celkem	192	100%

Zdroj: (vlastní výpočty)

Graf I. Rozdělení skupiny psů dle plemen



V porovnávací skupině psů byla diagnostikována pouze oční choroba hereditární katarakta - HC. Do skupiny pozitivních nálezů byly zařazeny všichni jedinci, u kterých byl zaznamenán jednoznačný nález diagnostikující HC, i ti, kteří byli vyhodnoceni jako negativní s doporučením na opakované vyšetření. U těchto psů je zaznamenán nález typu "zesílený posteriorní šev," který značí, že výsledek vyšetření je dočasně negativní, ale je tu jistá

pravděpodobnost, že během několika málo let bude pozitivní nález diagnostikován. Vzhledem k tomu, že pro výběr asistenčních psů je selekce přísnější a do výcviku není zařazen pes s tímto nálezem, bylo nutné porovnávací skupinu takto rozdělit, aby výsledek měl vypovídající hodnotu.

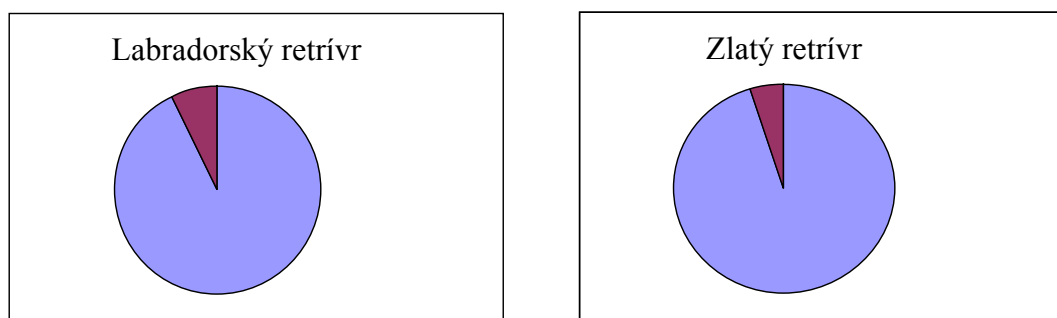
V tabulce II. a v grafu 2 jsou zaznamenány četnosti nálezů při oftalmologickém vyšetření v rámci jednotlivých plemen

Tabulka II. Rozdělení skupiny dle nálezu při vyšetření

plemeno	negativní	pozitivní	pozitivní (%)
LR	102	8	4,17%
GR	78	4	2,08%
celkem	180	12	6,25%

Zdroj: (vlastní výpočty)

Graf II. Porovnání četností nálezů u jednotlivých plemen



Z grafu II i z grafu III je patrné, že vyšší počet pozitivních nálezů byl zaznamenán u plemene labradorský retrívr. Celkově z výsledků vyplývá, že toto plemeno je více zatíženo genetickými očními chorobami, jak znázorňuje i tabulka číslo 2., kde jsou uvedeny relativní četnosti nálezů

Tabulka III. Rozdělení skupiny psů dle pohlaví

pohlaví	absolutní četnost	relativní četnost (%)
pes	77	40,10%
fena	115	59,90%
celkem	192	100%

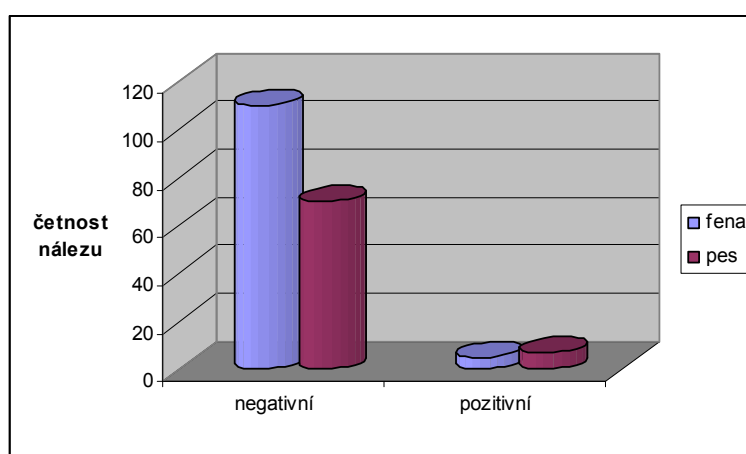
Zdroj: (vlastní výpočty)

Tabulka IV. Nález při vyšetření u rámci pohlaví

pohlaví	negativní	pozitivní
fena	110	5
pes	70	7
celkem	180	12

Zdroj: (vlastní výpočty)

Graf III. Absolutní četnosti nálezu v rámci pohlaví



Tabulky III. a IV. vyjadřují rozdělení skupiny podle pohlaví a četnost jednotlivých nálezů v rámci pohlaví zvířat, což je výstižně znázorněno i v grafu 3.

Tabulka V. Absolutní a relativní četnosti nálezu dle plemene a pohlaví psů

pozitivní nález	fena		pes	
	pozitivní	pozitivní (%)	pozitivní	pozitivní (%)
LR	3	1,56%	5	2,60%
GR	2	1,04%	2	1,04%

Zdroj: (vlastní výpočty)

Tabulka V. udává porovnání absolutních a relativních četností nálezu v rámci pohlaví zvířat. Jak je patrné, u porovnávací skupiny je nejvíce pozitivních labradorských retrívrů - psů. V celkovém hodnocení v rámci pohlaví zvířat je více pozitivních nálezů u psů jako takových, i přestože jich bylo vyšetřeno podstatně méně než fen.

5. Diskuse

Z výsledků oftalmologických vyšetření vyplívá, že ze 158 psů, určených k asistenčnímu výcviku, bylo zjištěno 7,6 % pozitivních nálezů z celého sledovaného souboru (tabulka č. 2.). Jednalo se o psy plemene labradorský retrívr a zlatý retrívr. Ostatní plemena - border kolie, německý ovčák, kříženec labradorského a zlatého retrívra - byla zastoupena v malém počtu - dohromady 15 jedinců. V této malé skupině nebyl zaznamenán žádný pozitivní nález (tabulka č. 6).

Plemena retrívrů jsou v České republice stále nejčastější volbou pro speciální asistenční výcvik. Jejich zastoupení v kontrolované skupině je tedy přirozeně největší. Ze 143 retrívrů bylo 7,1 % labradorských retrívrů pozitivních na genetické oční choroby a ze zlatých retrívrů to bylo 11,4 % pozitivních nálezů (tabulka č. 6). Porovnáme-li však procentuální zastoupení v rámci celé kontrolované skupiny, jednalo se o 4,4 % pozitivních labradorských retrívrů a 3,2 % pozitivních zlatých retrívrů (tabulka č. 8).

Porovnání výskytu očních vad v rámci pohlaví bylo provedeno, ale vzhledem k tomu, že výcviková centra volí pro výcvik stále častěji feny, byl jejich počet více než trojnásobně vyšší oproti počtu psů. Četností výskytu zde neudávají statisticky významný výsledek.

Z 16 genetických očních vad, na které se psi mezinárodně testují, byly ve skupině budoucích asistenčních psů diagnostikovány 3 poměrně významné choroby. Jedná se o oční vady PRA - Progresivní retinální atrofie, RD - Retinální dysplazie a HC - Hereditární katarakta. Progresivní retinální atrofie byla diagnostikována v 0,63 % případů z celého sledovaného souboru. U retinální dysplazie byl výsledek totožný 0,63 % a u obou očních chorob se jednalo o labradorské retrívry. Hereditární katarakta byla diagnostikována u labradorských i zlatých retrívrů. Z celkového souboru sledovaných jedinců se jednalo o 6,33% (tabulka č. 5). Ze skupiny retrívrů to bylo 6,99 % jedinců (tabulka č. 10).

Výše zjištěné výsledky byly porovnány s dostupnými výsledky skupiny 192 labradorských a zlatých retrívrů přibližně stejné věkové kategorie.

U těchto psů se jednalo pouze o jedinou genetickou oční vadu - hereditární kataraktu. Z celého souboru jedinců bylo diagnostikováno 6,25 % pozitivních nálezů. Pozitivních labradorských retrívrů bylo 4,17 % a zlatých retrívrů 2,08 % (tabulka II.).

Při analýze výskytu hereditární katarakty v ráci pohlaví bylo zjištěno, že choroba byla častěji diagnostikována u psů (3,64 %), nežli u fen (2,60 %). Celkově nejvíce pozitivních nálezů zaznamenáváme u labradorských retrívrů - psů (tabulka V.).

Porovnáme-li výše zjištěné hodnoty s výsledky skupiny budoucích asistenčních psů, zjistíme relativně malé rozdíly. Jak vyplývá z výše uvedených údajů, PRA a RD se vyskytly pouze ve skupině asistenčních psů a to v nepatrném procentu případů. HC byla diagnostikována u 6,99% asistenčních psů. V porovnávací skupině to bylo 6,25 % psů, z čehož lze usuzovat, že genetická oční choroba hereditární katarakta může mít v České republice obecně v populaci zlatých a labradorských retrívrů ve věku od 9 měsíců do 3 let přibližně takovou četnost výskytu.

Rozdíly v rámci pohlaví nelze jednoznačně posoudit. Ve skupině asistenčních psů bylo zjištěno nižší procento výskytu očních chorob u psů než u fen. Počet psů je však v této skupině příliš nízký v závislosti na preferencích výcvikových organizací ve výběru jedinců pro výcvik. Ve druhé skupině retrívrů byl jednoznačně nižší výskyt očních chorob u fen než u psů.

Prostřednictvím Chí-kvadrát testu byl sledován vliv plemene na výskyt genetické oční choroby. Ve sledovaném souboru nebyl pomocí Chí-kvadrát testu tento vliv prokázán. Přestože statistický soubor byl tvořen v období tří let a sestával z relativně vysokého počtu jedinců, četnosti nálezů u jednotlivých očních chorob jsou nízké a to i v případě hereditární katarakty, kde byl zaznamenán nejvýraznější výskyt.

V porovnání s výsledkem autorů (Kraijer-Huver et al., 2008) podle nichž byl celosvětový výskyt hereditární katarakty v letech 1980 - 2000 stabilně kolem 8 % v celé populaci psů, je výsledek v kontrolované skupině asistenčních psů nižší o cca 1,7 %.

Na základě další studie, Gelatt, McKay (2005), lze vyhodnotit, že ani jedno z plemen, zařazených do testování, nepatří do přední skupiny plemen zatížených touto oční chorobou ve více než 10 % z populace. Zjištěné četnosti tedy nejsou neadekvátně vysoké. Dle autorů však vzrostl výskyt choroby v celosvětové populaci psů za předchozích 40 let v průměru o 2,55 %. Důsledná selekce v chovu je tedy podstatným řešením problému přibývajících očních chorob. Výsledky kontrolované skupiny byly zjištěny na základě údajů o oftalmologickém vyšetření poskytnutých veterinárními oftalmology v České republice a se souhlasem čelních představitelů výcvikových organizací, které v letech 2006 - 2008 nechaly své psy testovat na genetické oční vady. Oslovené organizace provádějí kontrolu psů před zařazením do vlastního

výcviku (cca mezi 9 - 18 měsícem věku). Výsledky vyšetření štěňat ve věku 6-8 týdnů nebylo tedy možné vyhodnotit.

Nicméně vyšetření takto mladých štěňat je efektivní v případě plemen kólií, kde je nejzávažnějším problémem oční vada CEA, kterou v tomto ranném věku lze řádně diagnostikovat. V kontrolované skupině byla zahrnuta plemena, jejichž testování bylo v daném věku adekvátní. Vzhledem k okolnosti, že genetické oční choroby u asistenčních psů jsou v naší zemi relativně ranou problematikou, nebylo možné evidovat výsledky psů, pocházejících z vrhů po testovaných rodičích.

6. Závěry a doporučení

Kriteria výběrů psů pro asistenční výcvik se během posledních let vyvíjí a zpřísňují. Větší důraz je kladen na genetické zatížení vybíraných zvířat i v českých výcvikových organizacích, které již pravidelně nechávají své psy vyšetřit veterinárními oftalmology. Po provedení oftalmologického vyšetření je každému zvířeti vystaven certifikát o negativním nálezu pro 16 sledovaných genetických očních chorob. Cílem bakalářské práce bylo vyhodnocení četnosti pozitivních nálezů a posouzení problematiky očních chorob.

Na základě výsledků vyšetření z let 2006 - 2008 bylo zjištěno, že mladí psi v České republice vybíraní pro asistenční výcvik nejsou pozitivní na často diskutované oční vady, mezi které patří například PRA, CEA či abnormality očních víček. Nejčastější genetickou oční vadou vyskytující se u plemen retrívrů, kteří tvoří nejmarkantnější skupinu asistenčních psů, je hereditární katarakta (HC). Přestože četnost výskytu této choroby nepřesahuje v kontrolované skupině dle zjištěných výsledků 7 % v populaci testovaných retrívrů, je důležité klást důraz na kontrolu a selekci při zařazení psů do výcviku a to jak z ekonomického hlediska, kdy bereme v úvahu, že tato byť relativně malá skupina psů může být v průběhu několika následujících let vyřazena z pracovního procesu, tak z hlediska kvality chovu.

Většina asistenčních psů je v ranném věku kastrována a je zde velmi malá pravděpodobnost předání nežádoucího genu do další generace. Řešení se tudíž nabízí v soustředění organizací na kontrolu rodičů vrhů, ze kterých jsou štěňata vybírána

Ani tato důsledná kontrola však není stoprocentní zárukou, že pes zůstane po celý svůj život zdravý. Oftalmologické vyšetření je podloženo certifikátem na specifickou dobu 12 měsíců vzhledem k faktu, že v určitém procentu případů se v průběhu přibývajících let příznaky choroby projeví.

Oftalmologická vyšetření se tedy jednoznačně nevyrovnají genetickým testům z DNA zvířat. Testování z DNA je prokazatelně nejspolehlivějším, nicméně ekonomicky nejnáročnějším způsobem testování na genetické oční choroby. Umožňuje vyřazení psů klinicky nemocných i psů, kteří jsou vyhodnoceni jako nemocní, přestože v době testu nejeví příznaky onemocnění. Zároveň vyřadí ty z potencionálních rodičů, kteří genetickou oční chorobou nikdy ne onemocní, ale nesou gen do další generace, ze které mají být štěňata pro asistenční výcvik vybírána.

7. Přehled použité literatury

1. **Adkins E. A., Hendrix D. V. H.**, 2003, Cataract evaluation and treatment in dogs, Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, Veterinary Learning Systems, Trenton, volume 25, ISSN 0193-1903
2. **Aguirre G. D., Baldwin V, Weeks KM, Acland GM, Ray K**, 2001, Frequency of the codon 807 mutation in the cGMP phosphodiesterase beta-subunit gene in Irish setters and other dog breeds with hereditary retinal degeneration, Oxford Univ Press Inc., Journals Dept, NC, volume 90, ISSN 0022-1503
3. **Beránek, J.**, 2008, Praktická oftalmologie psa – dědičné choroby, in Galetová, Z., 2008, Problematika asistenčních psů v ČR, Výzkumný ústav práce a sociálních věcí, v.v.i., Praha, 1.vydání, 45 s., ISBN 978-80-7416-015-8
4. **Crispin, S. M.**, 2005, Veterinary Ophthalmology- Blackwell Science Ltd. and Blackwell Science Publishing company, Oxford, 6-11 s. , ISBN 0-632-06416-1
5. **Galetová, Z.**, 2008, Problematika asistenčních psů v ČR, Výzkumný ústav práce a sociálních věcí, v.v.i., Praha, 1.vydání, 44-45 s., ISBN 978-80-7416-015-8
6. **Gellat, K. N.**, 2000, Essentials of Veterinary Ophthalmology – Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland, USA, 270-277 s. , ISBN 0-683-30077-6
7. **Gelatt K. N., MacKay E. O.**, 2005, Prevalence of primary breed-related cataracts in the dog in North America, Veterinary Ophthalmology, Blackwell Publishing Ltd., Oxford, volume 8, ISSN 1463-5216
8. **Gelatt K. N.**, 2007, Veterinary Ophthalmology, fourth edition, Blackwell Publishing Ltd., Oxford, 965-967 s. , ISBN- 978-0-7817-6657-9/2
9. **Hron, P.**, 2000, Jak vyšetřovat oční pozadí u psa, in Galetová, Z., 2008, Problematika asistenčních psů v ČR, Výzkumný ústav práce a sociálních věcí, v.v.i., Praha, 1.vydání, 45 s., ISBN 978-80-7416-015-8
10. **Chaudieu, G.**,: Study of Progressive retinal atrophy in Border Collie, Pratique Medicale et Chirurgicale de l Animal de Compagnie, Cnvspa-Conf Natl Veterinaires Specialises Petits Animaux , Paris, 2001, volume 36, ISSN 0758-1882
11. **Kotman, J., Raušer, P., Kecová, H., Trnková, P., Krisová, Š.**, 2003, Veterinární oftalmologie – Noviko a.s., Brno, 61-62, 133-136, 140, 145 s., ISBN 80-86542-03-3

12. **Kraijer-Huver I. M. G, Gubbels E. J., Scholten J., Djajadiningrat-Laanen S. C., Boeve M. H., Stades F. C.,** 2008, Characterization and prevalence of cataracts in Labrador Retrievers in The Netherlands, American Journal of Veterinary Research, Amer. Veterinary Medical Assoc., Schaumburg, volume 69, ISSN 0002-9645
13. **Madany, J.,** 2003, Cataracts in juvenile dogs - some aspects of clinical examinations, Medycyna Weterynaryjna, Polish Soc Veterinay Sciences Editorial Office, Lublin, volume 59, ISSN 0025-8628
14. **Mellersh, C.,** Give a dog a genome, 2008, Veterinary Journal , Elsevier Sci Ltd., Oxford, volume 178, ISSN 1090-0233
15. **Lenská, B.,** 2009, osobní sdělení, Praha, 20.2.2009
16. **Petersen-Jones, S. M.,** 1998, A review of research to elucidate the causes of the generalized progressive retinal atrophies, University of Cambridge veterinary journal, Bailliere Tindall, London, volume 155, ISSN 1090-0233
17. **Petersen-Jones, S. M.,** 2005, Advances in the molecular understanding of canine retinal diseases, Journal of Small Animal Practice, British Veterinary Assoc., London, volume 46, ISSN 0022-4510
18. **Řezanková, H.,** 2007, Analýza dat z dotazníkových šetření, Kamil Minařík-Professional Publishing, Praha, 35-38 s., ISBN 978-80-86946-49-8
19. **Svoboda, M., Senior, D.F., Doubek, J., Klimeš, J. a kol.,** 2008, Nemoci psa a kočky, I.díl, 2.vydání - Noviko a.s., Brno, 699-735 s., ISBN 978-80-86542-18-8

Internetové zdroje:

1. **Froling, J.,** 1998, Finding a Suitable Candidate for Assistance Dog Work, [online] International Association of Assistance Dog Partners, dostupné z: www.DogAssistance.com
2. **McCalla, T. L.,** 2001, Progressive Retinal Atrophy in Dogs, [online] Animal Eye Care Llc., dostupné z: <http://www.animaleyecare.net/diseases/pr.htm>
3. Research samples needed for PRA and Cataract, [online] . Publikováno 6.5.2008, dostupné z: http://www.optigen.com/opt9_research.html
4. **Whiteley, M.** 1997, Genetic Testing - A Guide for Breeders, [online] The Canine Diversity Project, dostupné z: <http://www.netpets.org/dogs/reference/genetics/dnatest.html>