

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



Měsíční slepota u koní

Bakalářská práce

Autor práce: Havlíková Kateřina

Obor studia: Chov koní

Vedoucí práce: MVDr. Pavel Berka

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Měsíční slepota u koní" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20. 4. 2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala MVDr. Pavlu Berkovi za pomoc při psaní mé bakalářské práce.

Měsíční slepota u koní

Souhrn

Měsíční slepota koní neboli koňská rekurentní uveitis (ERU), také známá jako periodická oftalmie nebo iridocyklitida. Nemoc je velmi podobná lidské obdobě onemocnění, lidské autoimunitní uveitidě a to od klinických příznaků až po průběh onemocnění.

ERU je charakterizována rekurentními – remitujícími epizodami zánětu oka v nepředvídatelných intervalech a následnými klidovými fázemi. Ve většině případů je postiženo jedno oko a opakování zánětu může vést k oslepnutí oka nebo také postihnout druhé oko, které je zdravé. Proto se toto onemocnění řadí mezi nejnebezpečnější choroby očí. I když je onemocnění velmi nebezpečné, tak stále není jasná etiologie. Mezi teorie příčin patří nakažení *Leptospirou*, autoimunitní reakce na bakteriální toxiny a genetická predispozice.

Výskyt onemocnění se v zemích může lišit. Nejčastějším údajem je, že onemocnění ve světě se pohybuje okolo 7,6-8,3 % nemocných koní s uveitidou. Studie také ukázaly, že v záplavových oblastech je výskyt onemocnění až 40 %.

ERU má zřejmě více příčin, a proto je její léčba více symptomatická. Dvěma základními cíli léčby je zmírnit bolest a kontrolovat zánět. Podává se 1 % atropin buď samostatně, nebo v kombinaci s 10 % fenylefrinem. Tyto medikamenty jsou podávány za účelem zbavení ciliární svalové křeče, dilatují zornice, snižují zánět a také k dosažení mydriázy.

Dalšími způsoby léčby je zavedení implantátu s cyklosporinem A, vitrektomie a kmenové buňky. Cyklosporin A je velmi dobrý způsob léčby, protože prodlužuje dobu mezi dvěma zánětlivými epizodami a snižuje destruktivní účinky zánětu. Pars plana vitrektomie se používá, když už již dříve zmíněná terapie nefunguje. Jedná se o velmi efektivní způsob léčby.

Léčbou budoucnosti jsou možná kmenové buňky, neboť už teď jsou na toto téma vypracované studie.

I když je prognóza velmi rozdílná, pokud je ERU neléčené, končí to vždy stejně, a to oslepnutím.

Klíčová slova: koňská rekurentní uveitis, nemoc, *Leptospira*, měsíční slepota, autoimunitní onemocnění.

Monthly blindness in horses

Summary

Moon blindness in horses or equine recurrent uveitis (ERU), also known as periodic ophthalmia or iridocyclitis. The disease is very similar to the human equivalent of the disease or disorder of human autoimmune uveitis – from the clinical signs to the course of the disease and autoimmune reaction.

ERU is characterized by recurrent – remitting episodes of the eye inflammation at unpredictable intervals, and subsequent rest phases. In most cases is one eye affected, and recurrence of inflammation can result in blindness or the other healthy eye might also be affected. Therefore, this disease is one of the most dangerous eye diseases. Although the disease is very dangerous, there is still no clear etiology. The theory of the cause includes *Leptospira* infection, autoimmune response to bacterial toxins and genetic predisposition.

Furthermore, the incidence of the disease may vary across countries. The most striking feature is that there are about 7.6 to 8.3 % of patients – horses with uveitis worldwide. Studies have also shown that in the flooding areas, the disease incidence is up to 40 %.

ERU is a disease with multiple etiology, and therefore its treatment is more symptomatic. The two basic goals of the treatment are: to relieve pain and inflammation control. 1 % atropine is being administered, either separately or in combination with 10% phenylephrine. These drugs are commonly administered to get rid of the ciliary muscle cramps, dilated pupils, to reduce inflammation and also to achieve mydriasis.

Other ways of treatment are: an implant introduction with cyclosporine A, vitrectomy and stem cell introduction. Cyclosporine A is a very good method of treatment, because it extends the time between two inflammatory episodes and reduces the destructive consequences of inflammation. Pars plana vitrectomy begins when the already mentioned therapy does not work. This is a very effective method of treatment. However, the future treatment is the stem cell therapy, because some studies on this topic already exist now.

Although the prognosis is very different in case ERU is being untreated, the consequence is always the same, i. e. blindness.

Keywords: Equine recurrent uveitis, disease, Leptospira, moon blindness, autoimmune diseases

Obsah

1 Úvod	1
2 Cíl práce	2
3 Literární přehled	2
3.1Anatomie oka	2
3.1.1 Oční koule	2
3.1.1.1 Vrstvy oční koule.....	2
3.1.1.2 Obsah oční koule.....	3
3.2Co je uveitis	6
3.3Fotochemie zrakových pigmentů	7
3.4ERU jako přirozený model pro lidskou autoimunitní uveitidu	8
3.5Etiologie onemocnění	9
3.5.1 Leptospira jako příčina ERU	9
3.5.2 Protilátky k Leptospira proteinu LruC v oku	13
3.5.3 Oxidační stres.....	13
3.5.4 Genetické faktory.....	14
3.5.5 Proteiny v oku	16
3.5.6 Diferenciální exprese K ⁺ kanálů a aquaporinu 4 a 5 u autoimunitní uveitidy a jejich vliv na rovnováhu v Mullerových buňkách a homeostázy závislých buněk...	18
3.5.7 Imunitní příčina onemocnění.....	19
3.6Příznaky a epidemiologie	22
3.7Diagnostika	25
3.7.1 Diagnostika onemocnění způsobená Leptospirou	25
3.8Terapie	27
3.8.1 Cyklosporin A	29
3.8.2 Vitrektomie	31
3.8.3 Terapie u appaloosa koní.....	32
3.8.4 Kmenové buňky (MSC).....	32
3.8.5 Alfa – tocoferol jako ochrana proti oxidačnímu stresu	35
3.8.6 Očkování proti Leptospire a následná progresa v onemocnění.....	35
3.9Prognóza a prevence	35
3.10 Prevence	37
4 Závěr	39

5 Seznam literatury.....	40
---------------------------------	-----------

1 Úvod

Měsíční slepota koní neboli koňská rekurentní uveitis (ERU), také známá jako periodická oftalmie nebo iridocyklitida. ERU a jemu podobné nemoci byli poprvé popsány Vegetiem ve čtvrtém století našeho letopočtu. Spisovatel věřil, že toto onemocnění je způsobeno různými fázemi měsíce a podle toho se dnes onemocnění jmenuje měsíční slepota. James Wardrop byl první, kdo odlišil nitrooční zánět ERU od ostatních a nazval ho „specifický zánět“.

Ve většině případů je postiženo jedno oko, kdy opakované záněty mohou vést až ke slepotě, nebo na druhé straně postihnout i zdravé oko. Proto se toto onemocnění řadí mezi nejnebezpečnější onemocnění očí u koní. I když je onemocnění velmi nebezpečné a může dojít až k oslepnutí, tak jeho etiologie není zatím úplně objasněna. Je několik teorií, např. alergická reakce, autoimunitní reakce, nakažení *Leptospirou*, alergická reakce na bakteriální nebo parazitární toxiny a dědičnost neboli plemenná predispozice.

ERU je charakterizované rekurentními - remitujícími epizodami zánětu oka v nepředvídatelných intervalech a následnými klidovými fázemi. Známe tři druhy zánětu, kdy ve všech třech typech dochází k zánětu duhovky, řasnatého tělesa, cévnatky a přední komory. Mezi jednotlivými druhy zánětu jsou jisté niance v průběhu a poškození vnitřních struktur oka.

Terapie je u koní nejčastěji prováděna za pomoci mydriatik, pokud nefungují přistupuje se k zavedení implantátu s cyklosporinem. Poslední možností je vitrektomie a další méně časté možnosti jako je například aplikace kmenových buněk.

2 Cíl práce

Cílem práce je zpracovat literární rešerši příčin, příznaků a možností prevence onemocnění měsíční slepota koní.

3 Literární přehled

3.1 Anatomie oka

Oko neboli zrakové ústrojí je orgánem, který je reaguje na světelné podráždění. Jsou v něm uloženy světločivé receptory. V oku neboli oculusu je soustava ochranných a pomocných ústrojí světločivých čidel. Oko je následně spojeno s mozkiem za pomoci zrakového nervu. Oko je uloženo v orbitě. (Najbrt a kol., 1980).

3.1.1 Oční koule

Oční koule je tvořena schránkou, v níž je uschována sítnice se zrakovými čidly. Oční koule vytváří i ústrojí, která promítají světelný obraz na sítnici, zde jej zaostřují i regulují množství světla dopadající na sítnici (Najbrt a kol., 1980).

3.1.1.1 Vrstvy oční koule

Oční koule má tři odlišné vrstvy. První (fibrózní) je vazivový obal (vnější vrstva) s průměrnou funkcí, která má dvě části: vpředu je průhledná rohovka, která přechází v bělimu. Je to tuhá bílá blána. Střední (vaskulární) vrstva oka je tvořena cévním obalem, který je složený z cévnatky, rostrálně umístěného řasnatého tělesa a centrálně uložené duhovky. Vnitřní (nervovou) vrstvu oka tvoří sítnice, která je citlivá na světlo a rozděluje se na zrakovou a slepou část. Zraková část je složena ze světločivých buněk a obsahuje elementy pro černobílé vidění - tyčinky a buňky pro barevné vidění - čípky. Tyto receptorové buňky přeměňují světlo na nervový impulz. Sítnice je černá, protože obsahuje fuscín. Tato černá pigmentace nenapomáhá pouze absorpci světla, ale zabraňuje také vnikání nekontrolovaných světelných odrazů, které pronikají do ostatních částí oka (Najbrt a kol., 1980; Reece, 2011).

3.1.1.2 Obsah oční koule

Obsah oční koule je tvořen čočkou, sklivcem, komorovou tekutinou a vyplňují obě oční komory. (Najbrt a kol., 1980).

Oční čočka

Oční čočka má kruhový obvod, který nazýváme jako rovník čočky (equator lentis). Je také dvojevypouklá. Osa spojující přední pól čočky se zadním pólem se nazývá osa čočky – axis lentis. Přední plocha čočky (fascies anterior lentis) je méně vypouklá než zadní plocha čočky (fascies posterior lentis). Čočka je uložena mezi rohovkou a sklivcem. Je upevněna pomocí závěsného aparátu na řasnaté těleso, které se zesiluje směrem k cévnatce. Řasnaté těleso zahrnuje i tři skupiny hladké svaloviny (sval řasnatého tělesa), která jsou také seřazena v různých směrech. Při napětí závěsného aparátu způsobuje tlak sklivce, jeho uvolnění ovládá m. ciliaris. Při napětí závěsného aparátu se čočka zplošťuje, při uvolnění se čočka vypukne v důsledku uvolnění a díky své pružnosti. Změny vypuklosti čočky mění i její optickou mohutnost. Změny optické mohutnosti čočky nazýváme akomodace (Najbrt a kol., 1980; Reece 2011).

Význam čočky je velmi důležitý a to tím, že přenáší reálný obrácený obraz pozorovaného předmětu na sítnici. Oproti jiným strukturám oka čočka nemá vlastní cévní zásobení ani nervy. (Najbrt a kol., 1980; Reece, 2011).

Sklivec

Celý prostor za čočkou je právě vyplněn sklivcem a je označován jako camera vitrea bulbi. Sklivec je sklovitě průhledný a jeho konzistence je rosolovitá. Jeho tvar je kulovitý se seříznutou přední plochou ve tvaru jamky, kde se nachází prostor pro uložení čočky (Najbrt a kol., 1980).

Oční komory

Oční komory se nacházejí v prostoru mezi vnitřní plochou rohovky a přední plochou čočky. Tyto dutiny dělíme na přední a zadní oční komoru. Obě komory neúplně odděluje duhovka. Přední oční komora je uložena před duhovkou a je prostornější. Zadní oční komora je uložena za duhovkou a je menší. Obě komory vyplňuje komorový mok. Komorový mok je čirá bezbarvá tekutina, svou skladbou shodná s mozkomíšním mokem (Najbrt a kol., 1980).

Sítnice

Světločivá vrstva část neboli sítnice se nachází na vnitřní oční vrstvě. Sestává se z deseti vrstev a blízko zevního povrchu sítnice, hlavně blízko nad pigmentovým epitelem se nacházejí fotoreceptory neboli tyčinky a čípky. Nervový přenos míří směrem ke sklivci. Z receptorů pocházejí impulzy, které se následně kříží ve dvou interpolovaných vrstvách gangliových buněk sítnice. Vrstvy se dále dělí a jejich nejhlubší části se skládají z bipolárních a multipolárních neuronů. Jejich axony jsou rozvětveny na papile a postupně se slévají a spojují do zrakového nervu a opouštějí oční kouly. (Reece, 2011).

Sítnice domácích zvířat obsahuje jak tyčinky, tak čípky. Tyčinky jsou fotoreceptory pro černobílé vidění a čípky, které jsou fotoreceptory pro barevné vidění. U ptáků se v sítnici nacházejí hlavně čípky pro barevné vidění. Citlivé na světlo jsou hlavně tyčinky a jsou hlavně aplikovány při nočním vidění, protože jsou velmi citlivé na světlo. Za denního světla slouží k vidění hlavně čípky. (Reece, 2011).

Vidomá část sítnice se skládá ze dvou vrstev. Zadní pigmentovaná vrstva je těsně připojena na cévnatku. Tato struktura vytváří temno výstelku oční koule. Od cévnatky až k bělimě prostupuje zrakový terčík a na této struktuře se nenacházejí zraková čidla a je známá jako slepá skvrna sítnice. Naproti tomu dorsolaterálně od zrakového nervu na sítnici je umístěno místo s nejostřejším viděním a slouží k binokulárnímu vidění. Kromě tohoto místa existuje ještě jedno místo, kde je nejostřejší vidění pro binokulární vidění. Toto místo je ve tvaru protáhlého centrálního políčka. Tyto místa jsou zásadní a podstatou nejostřejšího vidění je zmnožení zrakových čidel, hlavně čípků. Slepá část sítnice neobsahuje žádná čidla a nachází se na řasnatém tělesu a duhovce. Nervové zakončení sítnice je zahrnuto do mozkové výchlipky a vede nervové dráhy ze sítnice do diencephala (Najbrt a kol., 1980).

Cévnatka

Jedná se o silně prokrvenou část, která je tvořena silně zapletenými arteolami a venulami a jsou spojeny vazivovými lamelami. Postupně se cévy degradují na kapilární síť směrem k vnitřní straně cévnatky. Tato síť kapilár má místo v řídkém vazivu. Na disku zrakového nervu se nachází vrstva, která silně odráží světlo, toto je velmi praktické za šera, kdy se vytvoří světelný okrasek a sebemenší světlo se v tomto terčíku odráží. Tímto způsobem mohou tato zvířata vidět i za šera. Tato vrstva odráží světlo za pomoci svazků hranolových

kolagenních vláken v cévnaté vrstvě. Tyto svazky se nacházejí v rozsahu trojúhelníkového pole. (Najbrt a kol., 1980).

Duhovka

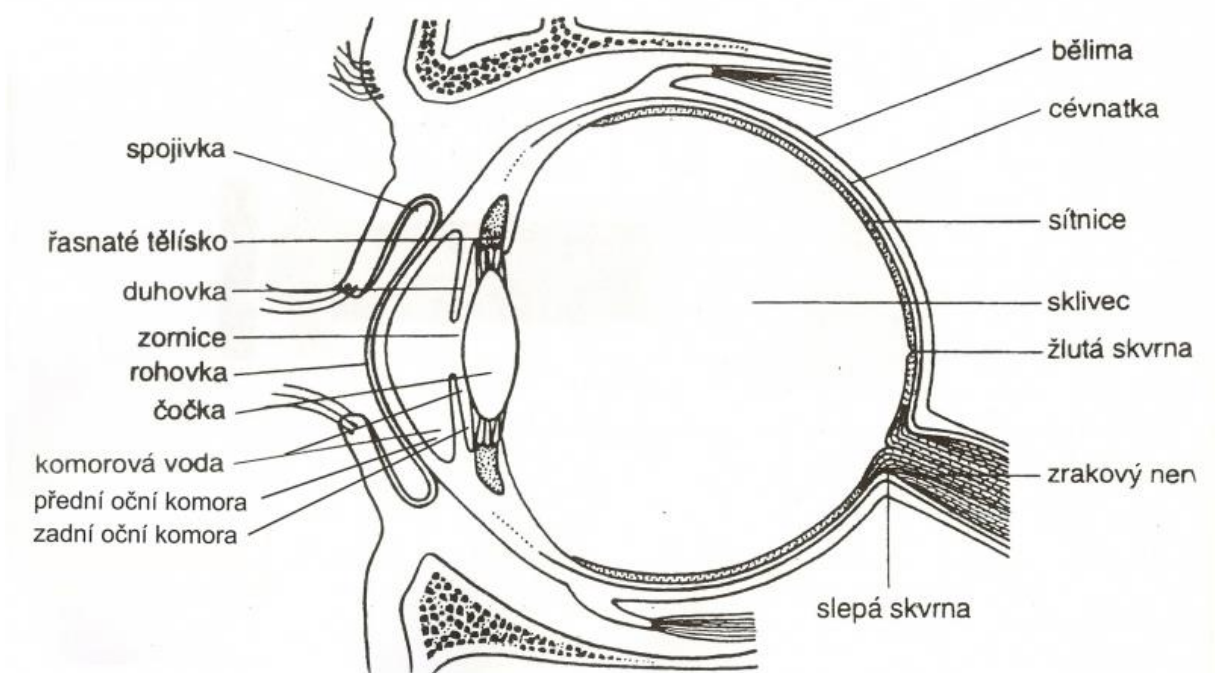
Duhovka má tvar mezikruží a svým periferním obvodem vystupuje z čelního okraje řasnatého tělesa. Duhovka podobně jako corona ciliaris se odchyluje od stěny bulbu k ose oka a visí jako clona před kaudální plochou čočky. Přední oční komoru od zadní oční komory právě odděluje výše zmíněná duhovka. Vnitřní otvor mezikruží právě vytváří zornicový okraj, který vymezuje zornici. Na regulaci šířky zornice se používají svěrače a rozvěrače zornice, které jsou tvořeny hladkým svalstvem. Tyto svěrače a rozvěrače reagují na světlo dochází ke kontrakci a následné mióze. Krvení duhovky je za pomoci ateriálních větví a arteria ophthalmica – arteriae ciliares posteriores lingae a arteriae ciliares anteriores brevec. Tato krev je následně odváděna za pomoci vortikózních žil (Kuchynka a spol., 2007; Najbrt a kol., 1980).

Řasnaté těleso

Přední pokračování cévnatky tvoří řasnaté těleso. Řasnaté těleso navazuje na cévnatku v pilovitém okraji a je také silnější než cévnatka. Duhovka navazuje na řasnaté těleso a vystupuje z jeho předního okraje. Základna se pevně upíná na anulus sclerae a je tvořena z vazivové blány. Řasnaté těleso má pigmentovou vrstvu, která je vytvořena ze slepé části sítnice. Slepá část sítnice je na řasnatém tělesu a pokrývá ho. Řasnaté těleso se diferencuje na dvě části, a to orbiculus ciliaris a corona ciliaris (Najbrt a kol., 1980).

Orbiculu ciliaris neboli řasnatý okrsek je skoro plochý pás, navazující na cévnatku a přiléhá na bělimu. Řasnatý okrsek má na sobě nízké řasy, které procházejí ve směru poledníků. Dále se vpředu zvedá v řasnatou korunu neboli corona ciliaris a následně se odklání od stěny bulbu k čočce. Výše zmíněné nízké řasy přecházejí z řasnatého okrsku na řasnatou korunu. Na hraně koruny se následně tvoří řasnaté výběžky (Najbrt a kol., 1980).

Valná část řasnatého tělesa je tvořena hladkým svalstvem a při kontrakci těchto svalů dojde k uvolnění závěsného aparátu čočky. Když se tyto svaly kontrahují dochází ke změně tvaru a optické mohutnosti čočky. Tomuto stavu se následně říká akomodace. (Kuchynka a spol., 2007).



Obrázek 1: Anatomické uspořádání oka

Dostupné z <http://skolajecna.cz/biologie/Sources/Textbook_Textbook.php?intSectionId=110700>

3.2 Co je uveitis

Mezi nejstarší obranné mechanismy organismu patří zánět, a to jak fylogenetický, ale také i ontogenický. Jedná se v podstatě o odpověď organismu na poškození buněk a tkání. Zánět mohou vyvolat jak fyzikální faktory, jako jsou například popálení, mechanické faktory, do kterých patří odřeniny, rány, buď celé do závorky, nebo místo obou závorek čárku a pak také chemické faktory a nutriční problémy. (Ferenčík a kol. 2005)

Funkce zánětu je odstranění a zředění škodlivin z tkáně, která byla poškozena. Mezi základní projevy zánětu patří zčervenání (rubor), otok (tumor), bolestivost (dolor) a také zvýšení místní teploty (calor) (Ferenčík a kol. 2005).

Uveitida neboli nescifický zánět duhovky, ciliárního tělíska a cévnatky. Uveitida nemusí postihnout jen struktury, které jsou vyjmenovány výše, ale i struktury přilehlé, jako jsou rohovka, skléra, sítnice a terč zrakového nervu. Narušení těchto struktur může ohrozit funkci oka. Uveitida je charakterizována typickými známkami zánětu, tj. zánětlivým exudátem

a buňkami v přední komoře a také ve sklivci. Příčina uveitidy je často neznámá, ale několik teorií existuje: infekce, autoimunita nebo také úraz. (Kuchynka a spol., 2007).

Přední uveitida je souhrnný název pro iridocyklitidu, iritidu a přední cyklitidu. Mezi základní projevy akutní uveitidy patří bolest, zarudnutí oka, světloplachost a také pokles vizu. Dále mezi méně časté příznaky náleží tyndalizace v přední komoře oka a přítomnost buněčných elementů. Pokud uveitida dojde až do těžké fáze, může se v oku objevit fibrózní výpotek a až hypopyon (Kuchynka a spol., 2007).

Chronická uveitida má velmi nezřetelné klinické příznaky, a proto se jí říká plíživá. Na endotelu rohovky se nacházejí části sraženin, jejichž tvar, četnost a rozmístění je rozdílné, a mohou charakterizovat různé typy uveitidy. Dále se na duhovce mohou objevovat Koeppeho nebo Busaccovy noduly. Zánět postihuje jak jedno, tak obě oči s nestejnou intenzitou a může probíhat měsíce až roky. Dále existuje intermediální uveitida, u které jsou velmi rozdílné klinické příznaky, které závisí na intenzitě zánětu a hustotě sklivcových zákalů. U lidí má zadní uveitida mnoho příznaků a mezi ně patří rozmazané vidění, plovoucí zákal, jiskření světla, metamorfopsie, výpadky zorného pole a může to skončit až snížením vizu. Klinický obraz zadní uveitidy je velmi rozmanitý a patří tam buněčná infiltrace ve sklivci – vitritidu, zánět sítnicových cév – retinální vaskulitidu, zánětlivá infiltrace sítnice a nebo cévnatky – retinitidu, retinochoroiditidu a choroiditida. Toto může způsobit až odchlípnutí sítnice. (Kuchynka a spol., 2007).

3.3 Fotochemie zrakových pigmentů

Aby zrakový vjem mohl začít, musí absorbovat z vnějšího prostředí fotony, které následně jsou zpracovány za pomoci fotoreceptorů. V diskovitých membránách zevních segmentů tyčinek a čípků se nachází zrakový pigment. Rodopsin neboli tyčinkový pigment se sestává z chromoforu neboli retinaldehydu, bílkoviny opsinu a složky absorbující světlo. V čípcích se nachází speciální bílkovina neboli opsin. Pokud je rodopsin vystaven světlu vyvolá to jeho rozklad, kdy končná sloučenina tohoto rozkladu je metarodopsin II. Metarodopsin II spoštětí zesílenou excitaci dále se štěpí na opsin a all – trans – reinal. All – trans retinal se dále přemění na 11 – cis - retinal. Následně se spojuje s opsinem a tvoří se nazpět rodopsin (Synek a Skorkovská, 2014; Reese, 2011).

3.4 ERU jako přirozený model pro lidskou autoimunitní uveitidu

Nemoc je také velmi podobná lidské období onemocnění neboli lidské autoimunitní uveitidě. Ačkoli experimentální autoimunitní uveitida je nejčastěji zkoumána na modelech hlodavců. Kůň je stále jediným přirozeným modelem pro zkoumání této nemoci. Existuje mnoho podobností onemocnění od klinických příznaků až po průběh onemocnění a autoimunitní reakce. (Uhl et al., 2015; Malalana et al., 2015)

Také z důvodu dlouhé životnosti koně, mohou probíhat dlouhodobé studie této nemoci. Jde na koních vidět, jak dochází k progresi onemocnění, opakování a průběhu epizod. Kromě toho, za předpokladu vitrektomie u koní s ERU, umožňuje získat značné množství vzorků, dostatečné pro testování autoprotiátok a dalších analýz. Proto je kůň brán jako velmi dobrý model pro zkoumání lidské autoimunitní uveitidy. (Witkowsky et al., 2016)

Potencionální geny přispívající k náchylnosti uveitidě u lidí

Geny v MHC, jako jsou například HLA geny. Tyto geny jsou zapojeny do očních zánětů. Na ně bylo dáno podezření, že jsou zapojeny do přirozené imunity. Jsou exprimovány na buňkách imunitního systému, aby rozpoznaly molekuly patogenů. Indikují exprese cytokinů, chemokinů nebo MHC molekul. (Kulbrock et al., 2013 a)

Byly popsány různé typy TLR. TLR-2 rozpozná gram pozitivní bakterie a TLR-4 dokáže rozpoznat lipopolysacharid gramnegativních bakterií. Pacienti s akutní přední uveitidou vykazují snížení TLR-2 na neutrofilech a monocytech a výrazně se sníží produkce interkulin a interferon gamma. Tyto výsledky vedou k diskuzi, jestli gramnegativní bakterie mohou být zapojeny do rozvoje akutní přední uveitidy. Genetické predispozice mohou být také důvodem pro vyšší náchylnost k infekci *Leptospira* spp. a důvod k silné imunitní reakci. (Kulbrock et al., 2013 a)

Akutní přední uveitida je přítomna buď samostatně nebo v kombinaci se systémovým onemocněním, jako je Behçetova nemoc (BD), systémová sarkoidóza, Vogt-Koyanagi-Haradův syndrom (VKHS). Nebo může postihnout jen oko pak se jedná o nemoci jako je Retinokoridopatie a sympatické oftalmii (SO) (Kulbrock et al., 2013 a)

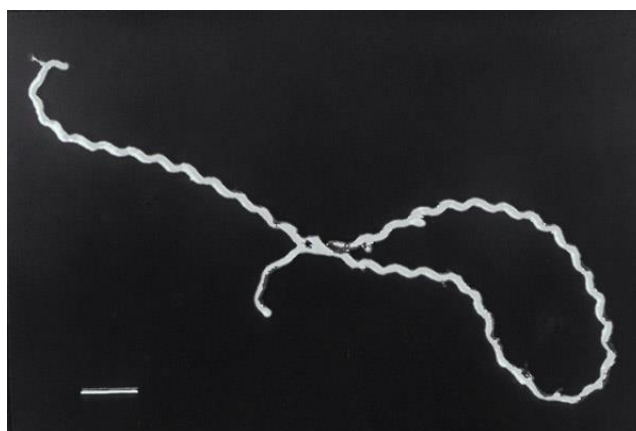
3.5 Etiologie onemocnění

Za posledních 35 let došlo ke značnému a významnému pokroku v chápání a řízení očních chorob u koňovitých. Tato onemocnění byla zdokumentována i za pomoci jiných zvířat, včetně člověka. Přesto existuje mnoho patologických chování oka koně, se kterými by měli být praktikující lékaři obeznámeni. Nicméně pokroky u jiných druhů zvířat, zejména laboratorních, kde jsme seznámeni s vyvíjejícími se koncepty oční mikrobiální patobiologií a imunochemií lépe než u jiných zvířat, mohou otevřít cestu k pochopení více onemocnění, u kterých není objasněn původ ani systém šíření. (Matthews, 2014)

Původ se může v různých zemích lišit. Existují dvě základní teorie, kdy v Evropě se přiklání více k leptospiře jakožto příčině onemocnění, zato v Americe se přiklání k autoimunitní příčině. (Witkowski et al., 2016)

3.5.1 Leptospira jako příčina ERU

Leptospira je nakažlivé zoonotické horečnaté onemocnění postihující jak domácí, tak i volně žijící zvířata, dokonce i člověka. Bakterie se buď přenáší přímo, nebo i nepřímo z klinicky neovlivněného hostitele jako náhodného neovlivněného přenašeče za pomoci vody, krmiva, kontaminované moči nebo inhalací kapiček moči. Příznivé podmínky pro leptospiru jsou vysoké teploty za účasti vysoké vlhkosti a také neutrální pH půdy. Tyto podmínky zajišťují delší časové období, kdy bakterie dokáží přežít. Tím že jsou koně na pastvině, nebo ve stáji dochází ke sdílení prostředí s celou řadou drobných savců především hlodavců. (Wangdi et al., 2013)



Obrázek 2: *Leptospira interrogans*

Dostupné z <<http://info.fujitahu.ac.jp/~tsutsumi/case/case154.htm>>

Koně se infikují vodou, která je infikovaná močí přenašečů, jak bylo řečeno výše hlavně hlodavci. V zimě jsou koně krmení krmivem bohatým na vlákninu, které nevyhnutelně bývá také kontaminované myší popřípadě krysí močí. (Houwens et al., 2011)

Jak bylo řečeno výše koně mohou být kontaminovány močí hlodavců, ale studie, které by to potvrdily, dělány nebyly. Proto se jedna studie tímto tématem zabývala, aby se zjistilo, jestli tato teorie je pravdivá. Bylo použito 299 malých savců z různých částí Německa a ze stájového prostředí. Dále také 87 vzorků vody ze stáje. Byla použita PCR diagnostika, kdy se zjistilo, že 14 % hlodavců, bylo pozitivních na leptospiru. Zjistilo se že také záleží na tom o jaký druh hlodavce se jedná. Hraboši byli oproti jiným drobným hlodavcům více pozitivní na leptospiru. Dále v 10 % z 87 vzorků vody bylo pozitivních na Leptospiru. Tyto výsledky potvrzují předešlou domněnku (Cibulski a Wollanake, 2016).

Onemocnění leptospirou se vyznačuje horečnatými stavy po dobu osmy dní. Po této době se bakterie v krevním řečišti nenachází, ale stále se mohou objevovat po dobu asi 5 měsíců v moči. (Malalana et al., 2015)

Protilátky jsou v těle patrné od 14 dne do 21 dne, v těchto dnech mají stabilní hladinu a po 21 dni začínají klesat. Tyto protilátky ale mohou být v těle prokazatelné i několik let a můžeme je detekovat i po sedmi letech od infekce. (Malalana et al., 2015)

Leptospira může mít několik průběhů a to od akutní, subakutní až po chronickou (Kuchynka a spol., 2007).

Klinické příznaky Leptospiry u koní jsou velmi podobné jako u jiných zvířat. Ve většině případů u mírných forem jsou hlavní projevy nemoci horečka, apatie a nechutenství. U těžších forem přichází celá řada typických příznaků, jako je zánět spojivek, žloutenka, anémie, petechiální krvácení na sliznici a obecná deprese. U hříbat dochází k selhání ledvin. Velmi závažný problém je, když je nakažena březí klisna. U těchto klisen dochází k placentitidě, potratům a narození mrtvých hříbat. V těchto případech je pak leptospira velmi dobře prokazatelná z fetálních a mateřských tkání. Potraty u klisen se vyskytují hlavně v pozdní fázi těhotenství, obvykle bez předchozích klinických příznaků. Ve velmi málo případech je hříbě donošeno a v těchto situacích se rodí ikterická a vyzáblá hříbata. (Verma et al., 2013)

Velký počet mikroorganismů se podílí na patogenitě onemocnění, jako je například *Brucella abortus*, *Borrelia burgdorferi*, *Streptococcus equi*, *Rhodococcus equi*, *Onchocerca*

cervicalis a *Toxoplasma gondii*. Nejdůležitějším patogenem podílejícím se na patogenezi onemocnění je ale stále leptospira. (Malalana et al., 2015)

Leptospiroza byla u koní považována za relativně méně častou infekci. Nicméně nedávné údaje naznačují, že rozšíření nákazy a výskyt se může lišit v různých geografických oblastech. Obecně platí, že protilátky proti sérovarům *L. icterohaemorrhagiae*, Bratislava, Pomona, Ballum a grippotyphosa bývají nejčastěji nacházeny ve vzorcích. Sérovary *L. grippotyphosa* a Pomona jsou nejčastěji spojovány s ERU ve střední Evropě a Americe, resp. Sérovary *L. autumnalis* a *icterohaemorrhagiae* jsou detekovány pouze sporadicky. Většina infekcí zůstává bez příznaků. Klinické příznaky u koní se podobají těm zjištěným u jiných živočišných druhů. (Verma et al., 2013; Witkowski et al., 2016)

Zda je leptospira hlavní příčinou nebo spouštěčem onemocnění, není stále jasné, protože výskyt leptospiry nebyl potvrzen u všech případů (Witkowski et al., 2016).

DNA leptospiry může být detekována z očních tekutin postižených koní, i když jsou séronegativní. To znamená, že nedostatek zjistitelných protilátek v séru nevylučuje leptospirozu jako potenciálně přispívajícím faktorem k onemocnění ERU. Velké rozdíly séroprevalence u koní mohou vzniknout také z rozdílných chovných systémů. Některé studie dokazují, že séroprevalence je velmi nízká u zvířat chovaných v intenzivních chovech a velmi vysoká u zvířat chovaných v rozsáhlém systému chovu, jako je to například u koz (Witkowski et al., 2016).

Jsou dvě teorie, které mohou vysvětlovat, proč leptospira může vyvolat onemocnění. První teorie pracuje s tím, že bakterie pronikají do oka a jsou uloženy v oční tkáni, kde vytvářejí stálý zánět a vystavují imunitní systém stále hrozbě. Druhé vysvětlení by mohlo být, že organismus napodobuje nativní antigen spuštěním imunitní odpovědi (molekulární mimikry). Byl prokázán antigenní vztah mezi několika proteiny leptospiry a koňskou rohovkou, sítnicí a čočkou. Zkřížená reaktivita těchto proteinů s protilátkami může mít iniciační faktor a může přispívat k patogenezi onemocnění (Malalana et al., 2015).

Séroskupiny nacházející se u koní s ERU

Mezi drtivou většinu izolátů séroskupin patří grippotyphosa (78,2 %). Další hojně zastoupené izoláty patří do skupiny Austalis (14,2 %), skupiny Sejroe (3,6 %), skupina Pomona (2,5 %) a skupina Javanica (1,5 %). Kromě tří izolátů nacházejících se u koní, také mezi

ně pravděpodobně patří *Leptospira kirschneri*, sérovar Dada a všechny skupiny grippotyphosa izolátů, dále také *L. kirschneri*. Analýza pomocí monoklonálních protilátek ukázala, že izoláty se lišily od Moskva V referenčního kmenu sérovaru grippotyphosa. Nicméně grippotyphosa izoláty se podobaly sérovaru grippotyphosa, kmen Duyster, který byl izolován z holandského pacienta. Vzhledem ke zjevné fenotypových a genotypových rozdílů mezi kmeny Moskva V a Duyster, navrhuje dva různé typy v rámci sérovaru grippotyphosa, konkrétně typ Moskva a typ Duyster. Duyster je omezen na západní Evropu. Pozoruhodné je, že jen několik sérovarů bylo izolováno z očí koní s ERU. Řada dalších běžně se vyskytujících sérovarů, jako je například Copenhageni, nebyly nalezeny, přestože přítomnost protilátek v krvi a v očních tekutinách proti takovým sérovarům naznačuje, že infekce se tam vyskytuje. Proto jsme utvořili hypotézu, že i když mnoho patogenních sérovarů mohlo proniknout do oční tkáně, tak pouze málo z nich je tam ale schopno přetrvávat (Hartskeerl et al., 2004).

Izolace séra a titrů protilátek *Leptospira interrogans*

L. interrogans byla izolována ze sklivce 242 koní z 270 očí s ERU a 54 kontrolních očí. *L. interrogans* byl zjištěn u 126 očí z 242 což je přibližně 50 %, ale nebyl nalezen u kontrolních očí. Geometrické titry protilátek byly izolovány proti *L. interrogans*, ve sklivci bylo 1 : 1332 a 1 :186 (Wollanke et al., 2001).

Výsledky tedy naznačují, že přetrvávající oční infekce *L. interrogans* je běžná u koní s ERU. Dále tako bylo zjištěno, že u 91 koní ze 120, měli čtyřikrát větší rozdíl mezi sérem a titry protilátek (Wollanke et al., 2001).

Séroprevalence leptospiry a asociace mezi séropozitivi, klinikou onemocnění a hostitelskými faktory u koní

Kdysi nebyl žádný významný prokazatelný vztah mezi klinickými příznaky a nemocí u pozitivních titrů. Nová studie, ale zjistila, že určité spojení zde je. Výsledky naznačují, že koně s rostoucím věkem a také koně žijící většinu času venku mají zvýšenou séroprevalenci. U leptospiry *icterohaemorrhagiae* hraje vedle managementu také velkou roli plemeno, kde poníci a chladnokrevní koně měli nižší séroprevalenci než zdraví koně. Lze tedy říci, že titer u průměrného zdravého koně bude vyšší než u koně mladého (Båverud et al., 2009).

Vyšetření sklivce a ultrastrukturální detekce na leptospiry

Studie vyšetřovala 17 koní, kteří trpěli spontánní recidivující uveitidou. Vzorky byly odebrány ze sklivce při pars plana vitrektomii. Vzorky byly následně vyšetřeny makroskopicky, ultrastrukturálně, také za pomoci mikroskopického aglutinačního testu (MAT) a pomocí polymerázové řetězcové reakce. Ve 24 % (4/17) případů, ultrastrukturální vyšetření elektronovým mikroskopem odhalila intaktní bakterii leptospiry ve sklivci. Devadesát čtyři procent (16/17) vzorků koní mělo většinou zvýšenou hladinou protilátek proti leptospira sérovaru grippotyphosa. Toto vyšetření bylo provedeno za pomoci metody MAT. Sedmdesát pět procent (9/12) bylo z bakteriálních kultivačních vyšetření pozitivní na leptospiru. Polymerázová řetězová reakce byla pozitivní ve všech případech (16/16). Tyto nálezy podporují teorii, že leptospira má významný podíl na patogenezi onemocnění (Brandes et al. 2007).

3.5.2 Protilátky k Leptospira proteinu LruC v oku

Screening Leptospiry interrogans z oční tekutiny u koní s uveitidou vyústilo v identifikaci nových proteinů, LruC. LruC se nachází uvnitř leptospiry na vnější membráně a lruC gen byl detekován ve všech testovaných patogenních kmenech L. interrogans. Specifická hladina protilátek proti LruC byla výrazně vyšší u koní s uveitidou než u koní zdravých, proto se předpokládá, že může hrát zásadní roly u koní s uveitidou (Verma et al., 2012).

Bylo prokázáno, že LruA a LruB zkříženě reagují s různými částmi oka. V jiné studii byl použit ELISA test za pomoci rekombinantní LruA a LruB jako antigeny, kdy došlo k pozitivní reakci se sérem od pacientů s autoimunitním onemocněním, jako je Behcetova nemoc a Fuchsova uveitida, což může být v důsledku prokázané reaktivity mezi protilátkami oka a LruA/B. Protože tyto proteiny reagují s vnitřními částmi oka, vyvstala otázka jestli i LruC může reagovat podobně jako LruA/B. Monosférické antisérum LruC nereagovalo s žádnou částí oka, proto pravděpodobně LruC není přímo spojena s autoimunitními aspekty uveitidy, ale určitou roli zde hraje (Verma et al., 2012).

3.5.3 Oxidační stres

Oxidační stres je možný rizikový faktor pro několik očních chorob, jako je glaukom, šedý zákal, diabetická retinopatie, degenerace sítnice a uveitida, která je předmětem této práce. Tyto nemoci produkovaly volné radikály v membránách sítnice, a tak může dojít ke zhoršení zrakových schopností. Oxidační stres je definován jako nerovnováha mezi pro-oxidačním

činnidlem a antioxidačními látkami. Kdy se spustí reakce na základě akumulace reaktivních forem kyslíku a dusíku. Sítnice je vysoce citlivá na oxidační stres, protože je nejvíce vystavena světlu a kyslíku, dále má vysoký obsah polynenasycených mastných kyselin, hlavně kyselinu dokoheksenovou, která je náchylná k peroxidaci lipidů. Tyto vnější membrány sítnice jsou v podstatě lipoproteinové komplexy (Terrasa et al., 2009).

Zvýšená peroxidace byla pozorována v přítomnosti Fe²⁺. Askorbace je výsledkem poruchy kovu v závislosti na předem vytvořeném lipidu, které pak následně vytvářejí reaktivní alkoxylové radikály a ty se pak následně podílejí na peroxidaci lipidů. Askorbát je tam na to, aby držel železo v redukovaném stavu, ale v tuto chvíli může dojít jen k zesílení produkce radikálů (Terrasa et al., 2009).

3.5.4 Genetické faktory

Tato teorie se začala prodiskutovávat až na začátku dvacátého století. V prvních pracích z roku 1940 nenašli žádnou spojitost s předáváním onemocnění z rodičů na potomky. Bylo to dáno tím, že autoři používali pouze hříbata. V dalších studiích byla teorie aplikována na trakénské koně a došli k závěru, že ERU by mohlo být předáváno recesivně, i když v této studii brali v potaz i vnější podmínky prostředí a tato myšlenka mohla hrát důležitou roli. Kromě toho v Anglii došlo k úbytku koní s ERU ve 40. letech, v důsledku selekce hřebců s tímto onemocněním. Kdy hřebci s šedým zákalem byli vyřazováni z chovu (Kulbrock et al., 2013 a).

Uveitida se vyskytuje u všech plemen koní, ale některá plemena mají pro tuto nemoc větší predispozice. Je nejčastěji viděna u appaloosa koní, evropských teplokrevníků a amerických klusáků. V Německé spolkové republice jsou častěji postiženi teplokrevníci a ponci než plnokrevníci. Bylo vyšetřeno 1014 koní v Německu a zjistili, že přenos onemocnění byl zpozorován u sedmi hanoverkých hřebců, u kterých bylo zjištěno 50 % potomků pozitivních na ERU (Kulbrock et al., 2013 a).

Funkční genetické faktory odpovědné za náchylnost k onemocnění jsou nedostatečně definovány. U lidí autoimunitní uveitida ukazuje na těsnou vazbu s určitou třídou MHC I alel. Například alespoň 96 % pacientů s birdshot chorioretinopatií jsou nosiči HLA-A29. U transgenních myší se liší klinické projevy v závislosti na haplotypu HLA. Dále také zjistili, že MHC typ I haplotyp ELA – A9 je silně spojen s ERU. Němečtí teplokrevníci nesoucí tento

haplotyp jsou náchylnější k onemocnění než jiná plemena, což představuje 41 % případů z celkového počtu zvířat trpících tímto onemocněním. Předběžné studie na švýcarském teplokrevníku ukazují, že 3 % jsou nositeli ELA- A9 (Witkowski et al., 2016).

Identifikace rizika lokusů u teplokrevných koní s recidivující uveitidou

Chronicky se opakující epizody zánětu a pozitivní terapeutické účinky kortikosteroidů vedly k tomu, že toto onemocnění je způsobeno autoimunitní reakcí těla. Důvody pro narušenou regulaci imunitního systému vedly k domněnce, že onemocnění může být spojeno s genetickými faktory, jako jsou například podobnost s lidskou autoimunitní uveitidou a jejím genetickým pozadím. U teplokrevných koní s leukocyty antigenu sérologického haplotypu A9 s ERU, ukázaly, že hlavní histokompatibilní komplex I (MHC I) ovlivňuje vývoj ERU (Kulbrock et al., 2013 a; Malalana et al., 2015).

Nicméně genetické faktory samy o sobě nemusejí vést k rozvoji onemocnění. Experimenty s HLA-B27 na transgenních zvířatech ukázaly, že zůstala zdravá v prostředí bez patogenů. Onemocnění se vyvinulo, když se dostala do prostředí, kde byla vystavena mikrobům. To podporuje teorii, že nejenom genetický faktor je příčinou onemocnění, ale i vliv prostředí je zásadní pro rozvoj onemocnění (Malalana et al., 2015).

Němečtí teplokrevníci a jejich genetická predispozice k ERU

Studie dělaná na teplokrevných koních ve Spolkové republice Německo zjistila, že koně nesoucí haplotyp ELA-A9 byli náchylnější k onemocnění (Witkowski et al., 2016).

Dále sdružení jedné studie genomu ukázala význam jednoho nukleotidu pro polymorfismus (SNP) ECA 20 na 49,3 Mb, s IL – 17A a IL – 17F. Tento lokus byl zodpovědný za 23 % fenotypových variací u ERU. Kromě toho SNO na ECA18 u seskupení genů krystalického CRYGA – CRYGF bylo spojeno se závažností ERU (Kulbrock et al., 2013 b).

Genetické rizikové faktory pro ERU u appaloosa koně

Plíživé onemocnění ERU je běžně viděno u appaloosa koní a vyznačuje se přetrvávajícím nitroočním zánětem s postupnou a kumulativní destrukcí buněk vnitřních struktur oka. Vyšetření oka zasaženého ERU často odhalí změny, které jsou diagnostikovány jako chronický zánět. U jednotlivých koní se postižení očí liší, mohou být jak jednostranně, tak oboustranně

postižení, dále závažnost a průběh je u každého koně jiné. Ačkoli se uveitida objevuje u všech plemen koní, tak u appaloosa koní je osmkrát vyšší pravděpodobnost výskytu. Často mají zákeřnou formu ERU a je téměř čtyřikrát větší pravděpodobnost výskytu slepoty oproti ostatním plemenům. Toto naznačuje, že společná náchylnost na ERU má základ v genetice (Malalana et al., 2015).

V poslední době genetické analýzy identifikovala tři markery, které zajišťují větší náchylnost k onemocnění. První z nich je jednonukleotidový polymorfismus (SNP), který silně koreluje s leopardím komplexem. Ostatní dva jsou mikrosatelity, spojené s ELA (koňský lymfatický antigen (Malalana et al., 2015).

Účinek jedné kopie alely LP je produkce bílých vzorů středem těla a přes boky koně, které mohou přesahovat přes většinu těla a skvrny mohou mít oválný tvar. LP byla zmapována na regionu 6 cm na koňském chromozomu 1 (ECA1), přechodného receptoru kationtového kanálu. Podčeledi M, člen 1 (TRPM1) byl identifikován jako poziční kandidátní gen pro LP. TRPM1 snižuje expresi v sítnici a kůži Appaloosa koně. Mechanismus pro tuto sníženou expresi předpokládá, že je způsobena předčasnou palyadenylací vyplývající z dlouhého koncového opakování a vložení do intronu 1 LP. Formy lidské uveitidy, které byly spojeny s autoimunitní reakcí proti melanocytům exprimovaného proteinu v pigmentovaném epitelu uveálního traktu a byly detekovány protilátky proti TRPM1 v séru pacientů s paraneoplastickou retinopatií, což vede k hypotéze, že změněné TRPM1 v melanocytech uveálního traktu se může podílet na autoimunitní odpovědi a také na plíživé uveitidě u Appaloosa koní (Fritz et al., 2014; Malalana et al., 2015).

3.5.5 Proteiny v oku

Epitel pigmentu sítnice (RPE) vytváří krevní bariéry oka a hraje důležitou roli v patogenezi oka při onemocnění ERU (Zipplies et al., 2010)

Tyto dvě sítnicové bariéry hrají hlavní roli při imunitní obraně oka. Za fyziologických podmínek zajišťují, aby se leukocyty mohly pohybovat jen ve vnitřních strukturách oka. U ERU ale dojde k narušení této bariéry, tvořené z proteinů a následkem toho se leukocyty dostávají i do vnějších struktur oka s následným opakujícím zánětem až konečnou destrukcí struktur sítnice (Zipplies et al., 2010).

Jeden významný protein regulovaný dolů je pigment epithelium, je to silný inhibitor angiogeneze a Wnt drah. Produkuje ho pigmentový epitel sítnice a Muller gliové buňky sítnice. Uveální léze jsou navíc doprovázeny změnami v gliálním fibrilárním kyselým proteinem (GFAP), vimetinu a glutaminu, což naznačuje na aktivaci RMG. U koní také bylo prokázáno, že tyto buňky jsou zdrojem DKK3 a SFRP2 proteinů, což jsou inhibitory kanonické Wnt dráhy. Přičemž distribuce DKK3 je podobná jak u koňského, myšího a lidského RMG. U koní s ERU byly tyto proteiny v menším množství, to naznačuje na změny v mikroprostředí oka. Expresse dalších proteinů, včetně osteoporinu, byla také výrazně snížena. ERU ovlivňuje funkci adhezního fibronektinu a snižuje neuroprotektci (Hauck et al., 2012).

Proteiny po snížení jejich hladiny zhoršují propustnost Mueller gliovými buňkami, a tím pádem mohou spouštět zánětlivý proces a zhoršovat regulaci vody, jako je například aquaporin-5 za současného vylučování TNF – z makrofágů. (Witkowski et al., 2015)

Studie zabývající se proteiny u ERU, chtěla zjistit, které proteiny jsou zapojeny do patogeneze onemocnění. Chtěli vytvořit různé diferenciační analýzy proteomu pomocí dvourozměrného dodecylsulfátu sodného - polyakrylamidového pomocí gelové elektroforézy a bylo prokázáno 352 proteinových skvrn. Dále byly srovnány lymfocyty a proteiny u zdravých jedinců a jedinců s ERU. Zjistilo se, že 7 proteinů bylo rozdílných od zdravých koní a vyskytovaly se v nižším počtu u koní s onemocněním. Dále se předpokládá že septin 7, hraje hlavní roli v regulaci buněčného tvaru, pohyblivosti a migraci. Další analýzy ukázaly, že snížení septinu 7 je hlavně u koní s ERU. Tato zjištění poukazují na to, že snížení septinu 7 je možná patogenetická příčina ERU (Degroote et al., 2014).

Další analýza identifikovala 148 RPE proteinů na buněčném povrchu. Mezi těmito 148 proteiny bylo 27 odlišných od zdravých jedinců. Mezi těmito 27 proteiny, byl peripherin 2, který za normálních fyziologických podmínek zajišťuje vizuální vnímání a sítnicový vývoj. Je známo, že peripherin 2 je selektivně exprimován na vnějším segmentu fotoreceptorů sítnice. Mutace v genu peripherinu 2 jsou běžně spojovány s degenerativním onemocněním sítnice jako *retinis pigmentosa* a autosomální dominantní makulární dystrofií u člověka. Peripherin 2 se dostane do RPE buněk fagocytózou podobně jako rhodopsin. Nová lokalizace a charakterizace peripherinu 2 u zdravých a uveitických RPE buněk je velmi zajímavá. Proto je pro budoucí bádání postaven základ k dalším vyšetřením fyziologických a patofyziologických procesů, odehrávajících se v RPE (Uhl et al., 2015).

Změna funkcí a interakce TIMP proteinu, spolu se změnami expresí funkčně souvisejících MMP

Expresa TIMP2 proteinu byla snížena jak ve sklivci, tak v sítnici u očí s uveitidou. Aktivita TIMP2 byla výrazně snížena ve sklivci u koní s ERU. S tímto proteinem bylo funkčně spojeno MMP jako MMP2, MMP14 a MMP9, kde byla změněna exprese i aktivita. Například MMP2 snížil dopad ERU ve sklivci, zato u MMP9 se exprese i aktivita zvyšovala. LCN2, potencionální stabilizátor MMP9, byl nalezen u koní se zdravou sítnicí v hojném množství a vytváří pozoruhodné změny v expresních vzorech doprovázený výraznou regulací dolů u autoimunitního onemocnění. Napadané buňky exprimovaly MMP9 (Hofmaier et al., 2011).

3.5.6 Diferenciální exprese K⁺ kanálů a aquaporinu 4 a 5 u autoimunitní uveitidy a jejich vliv na rovnováhu v Mullerových buňkách a homeostázy závislých buněk

Mullerovy gliové buňky jsou hlavní macrogliární buňky v sítnici a zajišťují základní funkce pro podporu neuronů, výživu a metabolismus. Jsou proto velmi úzce zapojeny do fyziologických procesů související s funkcí neuronových buněk, jakožto i zachování integrity sítnice. Hlavní funkce Mullerových buněk zahrnuje recyklaci neurotransmiteru, metabolismus glukózy a regulace homeostázy sítnice. Mezi základní úlohy Mullerových buněk patří regulace kapalin a K⁺, je proto třeba posoudit, jakou úlohu pak hrají u autoimunitní uveitidy, kde nerovnováha funkčních iontů a vody by mohla přispět k otoku a neuronální buněčné smrti gliových buněk. Draslíkové kanály Kir4.1 a Kir2.1 jsou známy jako nejrozšířenější K⁺ prostorové ukládání do vyrovnávací paměti (Eberhardt et al., 2011).

Tato studie se zabývala zkoumáním membránových proteinů zapletených v iontové a vodní homeostáze oka. Zjistili, že Kir2.1 byl silně exprimován u nemocné sítnice, zatímco Kir 4.1 se reguloval směrem dolů ve srovnání s kontrolní zdravou skupinou. Distribuce Kir2.1 se objevila u Mullerových buňkách. Na rozdíl od jiných podjednotek je Kir 4.1 rovnoměrně exprimován v Mullerových buňkách u zdravých koní, zatímco u koní s ERU Kir4.1 téměř zmizela z Mullerových buněk. Sítnice postižená uveitidou také vykazovala významně zvýšenou expresi AQP4, stejně jako posunutou expresi u zdravých koní k intenzivnímu expresnímu profilu ve vnější nukleární vrstvě v případě ERU. Zjistili, že aquaporin AQP5 byl silně zastoupen v Mullerových buňkách se silným zastoupením v sekundárních procesech. Toto zjištění naznačuje, že množství vody v koňské sítnici může být regulované dalším aquaporinem. Kromě toho AQP5 byl významně snížen u uveitidy. Tato studie došla k závěr, že Mullerovy buňky

u autoimunitní uveitidy vyvolávají změny v draselné a vodní fyziologii sítnice (Eberhardt et al., 2011).

3.5.7 Imunitní příčina onemocnění

Imunitní systém

Imunitní systém se vyvíjel jako obranné zařízení, které chránilo jedince určitého biologického druhu před splynutím s jedincem jiného biologického druhu (Ferenčík a kol., 2005).

Savci, včetně člověka, mají imunitní systém složen z mnoha typů buněk a obrovského počtu molekul různých látek, které jsou schopné nejen rozpoznat a usmrtit patogenní organismy, ale i tolerovat prospěšné mikroby v trávicím ústrojí (Ferenčík a kol., 2005).

Imunitní systém organismu má tedy dvě základní funkce a to buď buňky likvidovat (cizorodé organismy), nebo je tolerovat. Tuto základní úlohu imunitního systému udržují mnohé regulační mechanismy, které jsou součástí nejen imunitního, ale též hormonálního a nervového systému. Porucha těchto regulačních mechanismů má za následek i poruchu v rozpoznávání toho, co je organismu vlastní a co nevlastní. Tehdy se některé součásti imunitního systému mohou chovat jako diverzant (záškodník) nebo nepřítel a poškozovat vlastní struktury, buňky a tkáně. Jde pak o imunopatologické reakce (Ferenčík a kol., 2005).

Autoimunitní onemocnění

Aby se určitá choroba mohla nazvat autoimunitní, musí se v první řadě definovat, co je cílem útoku, který orgán nebo buňka, přesněji i která struktura (tzv. autoantigen). Obvykle je cílem nějaký izolovaný orgán, někdy je však cílů více a napadena je celá řada orgánů. Za druhé se musí určit, které mechanismy imunity jsou zodpovědné za napadení vlastních orgánů, zda jsou to buňky, nebo protilátky. Třetí podmínka spočívá v experimentálním důkazu: zdravé zvíře se imunizuje látkou aktivující imunitní reakci (tzv. adjuvans) s příslušným předpokládaným autoantigenem a indukuje tak tvorbu autoproti látek proti určité tkáni, která se stala terčem útoku u určitého onemocnění. Například imunizace červenými krvinkami s vhodnou adjuvans vede k tvorbě protilátek proti červeným krvinkám a k rozvoji autoimunitní hemolytické anémie. Čtvrté kritérium je pak založeno na důkazu, že pasivním přenosem protilátek jednoho zvířete na druhé způsobíme příslušné onemocnění (Shoenfeld a kol., 2007).

Oko je považováno za imunitně privilegované místo jak u lidí, tak i u koní. Oční imunitní privilegium umožňuje oko chránit před patogeny, aniž by vznikla zánětlivá reakce, která by nenávratně mohla poškodit struktury oka. Na tomto procesu pracuje několik bariér, jako je krev, oční bariéra, nedostatek lymfatických cév, snížení počtu buněk prezentujících antigen (Malalana et al., 2015).

Equinní recidivující uveitida je jediný spontánní model u zvířat, který nám umožňuje zkoumat autoimunitní transformaci leukocytů během onemocnění. Existuje hypotéza, že periferní krevní buňky imunitního systému mohou měnit expresi proteinů u spontánní autoimunitní uveitidy a na tuto teorii použili DIGE k detekci proteinů, které měly změněné množství oproti zdravím jedincům. Také zjistili, že významně snížené množství bylo u talinu 1 v granulocytech periferní krve, což ukazuje na změny v beta intagrinu a jeho aktivaci. To indikuje významnou úlohu u vrozeného imunitního systému ve spontánních autoimunitních onemocněních (Degroote et al., 2012).

Co se týče vyšetření mikroskopického vzhledu oka a jeho složení. Na toto téma bylo provedeno několik studií. V jedné studii zkoumali sedm koní se zánětem a u pěti z nich byla potvrzena měsíční slepota. Do projektu bylo zařazeno také pět zdravých koní. Po klinickém vyšetření byly oči vyjmuty a oční tekutiny s přední uveální tkání byly zpracovány pro histologickou a molekulární analýzu. RNA vzorky byly analyzovány u posla (m) RNA, specifické pro interleukin -2,4 a interferon – gama pomocí reverzní transkriptázy polymerázové řetězové reakce. Histologické vyšetření prokázalo infiltraci uveálního traktu lymfocyty, plazmatickými buňkami, makrofágy, nejvíce byly patrné v řasnatém tělísku a spodní části duhovky. Infiltrující lymfocyty byly převážně CD4 + T – buňky (např. 48% CD4 + CD8 a 18 % z nich se nacházejí v řasnatém tělísku stromatu). Výsledek QRT – PCR ukázal zvýšenou transkripci IL – 2, IFN γ , IL4 a IL – 4, ale zase s nízkou expresí mRNA u očí s chronickým ERU ve srovnání se zdravými očima (Gilger et al., 1999).

Většina buněk napadených uveitidou jako je sklivec, sítnice a duhovka. Jsou infiltrovány T- buňkami hlavně Th lymfocyty, které způsobují autoagresivní odpověď proti několika proteinům v sítnici. B – lymfocyty byly zjištěny u koní séropozitivní na L. pomona. U séropozitivních koní oční kapalina obsahuje IgA a IgG při vyšších koncentracích než v séru, což naznačuje spíše systémový problém než místní. Protilátky specifické pro leptospiru jsou lipoproteiny LruA a LruB. Bylo prokázáno, že zkříženě reagují s letikulárními proteiny α –

krystalinem B a vimetinem a proteiny v sítnici beta - kystalinem B2. (Witkowski et al., 2016; Deeg, 2008)

Byla prokázána přítomnost IgG autoprotilátek ve sklivci u recidivující uveitidy. Potenciální úloha IgM při ERU zůstává neznámá. Proto se studie zaměřuje na přítomnost IgM u postižených koní ERU a testuje jejich vazebnou specifikaci k exprimovaným proteinům. Byla ale provedena studie přímo na obsah IgG v získaných vzorcích. Analyzovala celkový obsah IgG, IgG specifický pro S – antigen a interphotoreceptor retinoidy vázající receptor protein (IRBP). Celkový obsah IgG ve vzorcích od koní s ERU byl velmi vysoký, ale s velkou variabilitou mezi zkoumanými vzorky ($11,5 \pm 8,0$ mg) autoprotilátky proti S – Ag nebo IRBP byly přítomny u 72 % skelných vzorků. V infiltrátu leukocytů převládaly lymfocyty ve většině případů (22/32) průtoková cytometrie ukázala, že více jak 50% z těchto buněk byly CD4 a T buňky. Proto i toto vyšetření poukazuje na to, že onemocnění je způsobeno autoimunitně, jako to je u lidské recidivující uveitidy (Deeg et al., 2001).

Ve vzorcích zdravých koní nebyla autoreaktivita detekována, zato NF-M byl specificky zaměřen ve sklivci až u 44 % koní postižených uveitidou. Ve sklivci byl detekován anti-NF-M pouze v 8 % vzorků u koní s ERU, což poukazuje na přetrvávající IgM odpovědi. NF-M u zdravých koní se nachází v gangliových buňkách sítnice. NF-M exprese u koní s ERU se výrazně snížil a zbývající exprese je omezena na nervová vlákna (Swadzba et al., 2012 a).

Autoantigeny

Už dříve bylo objeveno několik autoantigenů, které se zapojovaly do onemocnění ERU, ale nedávno byl objeven membránový protein. Protože existuje velký přesah mezi glykoproteiny a membránovými proteiny, proto se studie na toto téma snažila zjistit, jestli je pre – obohacení sítnice glykoproteiny ConA účinný nástroj pro detekci kandidátů autoantigenů mezi membránové proteiny. Synaptotagmin-1, Ca²⁺ -sensing protein v synaptických váčcích byl identifikován jako kandidát autoantigenu z předem obohacené glykoproteinu frakční hmotnostní spektrometrií a byl ověřen jako vysoce převládající autoantigenu u enzymatického imunitního testu. Analýza exprese v sítnici na Syt1 u ERU ukázala sníženou regulaci ve většině případů postižených sítnicí na 24 %. Výsledek ukázal na poruchy regulace uvolňování neurotransmiterů v sítnici. Identifikace synaptotagmin-1,

jakožto prvního autoantigenu spojeného s buněčnou membránou, prokázala že zkoumání tkání za pomoci frakce může vést k objevení nových autoantigenů (Swadzba et al., 2012 b).

Hladina imunoglobulinu a albuminu v komorovém moku u koní s a bez onemocnění

Hladiny albuminu byly detekovány pomocí radiální imunodifúze. Výsledky testů koní bez onemocnění, z nichž mok byl získán paracentézou pod anestezií, byly $32,10 \pm 21,5$ mg/ml pro IgG, $0,05 \pm 0,01$ g/ml pro IgM, $0,04 \pm 0,02$ g/ml pro IgA a $34,0 \pm 38,0$ pg/ml albuminu. Výsledky u 138 normálních očí, vzorky po porážce byly $41,56 \pm 38,65$ pg / ml pro IgG, $0,18 \pm 0,43$ ng / ml pro IgM, $0,46 \pm 1,45$ mg / ml pro IgE a 184 ± 240 pg / ml pro albumin. Hladina albuminu a imunoglobulinů byla u nemocných koní velmi vysoká a dosahovala 50 – 120 % vyšších hodnot než u zdravých jedinců (Halliwell et al., 2009).

3.6 Příznaky a epidemiologie

ERU je klasifikován do tří základních klinických forem: klasická, závažná a zadní. Klasické ERU je charakterizováno epizodami nitroočního zánětu, po kterém následuje období klidu a při každém vrácení zánětu dojde k většímu poškození vnitřních struktur oka (Witkowski et al., 2016).

Závažná forma je nejčastěji spatřena u koní plemene appaloosa a vyznačuje se přetrvávajícím malým zánětem, který nemusí mít pozorovatelné klinické příznaky. U této formy je velmi závažný kumulativní destruktivní účinek na vnitřních strukturách oka. Uveitida postihuje hlavně sklivec, sítnici, a nejběžněji cévnatku, což je nejběžnější forma hlavně



Obrázek 3: Šedý zákal u koně postiženého měsíční slepotou

Dostupné z <<https://www.equine.umn.edu/research/equine-genetics-and-genomics-laboratory/current-projects/equine-recurrent-uveitis>>

u teplotkrevných koní v Evropě. U této formy je velmi častý zánět duhovky, řasnatého tělesa a cévnatky, který je doprovázený bolestivostí a miózou. Progrese onemocnění a následný výskyt šedého zákalu vede v konečné fázi až k oslepnutí. Onemocnění může napadnout jak jedno, tak obě oči, ale oboustranné postižení má větší prevalenci pro appaloosa koně, což představuje 80 % případů. Oproti ostatním plemenům, které mají prevalenci 40 % (Witkowski et al., 2016).

Příznaky akutní uveitidy jsou velmi rozmanité a zahrnují bolesti oka, křeč svalů horního víčka, slzení, chemické změny rohovky (edém, vaskularizace, buněčný infiltrát, sraženiny), hromadění hnisu v přední komoře oka (hypopyon), krvácení do přední komory oka (hyphema), zúžení zornic a nízký nitrooční tlak. Po akutní formě následuje zánět sklivce se zkapalněním sklivce a sítnicové změny. Změny způsobené s předchozími epizodami zánětu mohou zahrnovat zjizvení rohovky, depigmentace, atrofie a fibróza duhovky, srůsty a různé abnormality v duhovce, šedý zákal, glaukom a další změny v oku (Malalana et al., 2015).

Další příznaky také mohou být keratitida, vředy rohovky, stromální abscesy, nádory nebo glaukomy (Kulbrock et al., 2013 b).

Infiltráty se sestávají převážně z T – buněk u očí s minimálními histopatologickými změnami. Histopatologické změny začínají s destrukcí vnějších segmentů fotoreceptorů, což často vede k fokálnímu odchlípení sítnice. U těžších případů dochází k rozpadu vrstvy s gangliovými buňkami a jaderné vnitřní vrstvy. Dochází také k formování lymfoidních folikulů.

Typická lokalizace těchto folikulů je duhovka a cévnatka. Je to od oblasti přechodu sítnice bez fotoreceptorů do oblasti obsahující buňky fotoreceptorů. Tyto váčky se skládají z obvodu bohatě obsahující T – buňky a středu skládají z CD3 negativních lymfocytů. V případech s extrémními histopatologickými změnami dochází k jejich rozpadu a masivní infiltraci sítnice, cévnatky a řasnatého tělesa několika typy zánětlivých buněk. Pokud jsou nalezeny nekrotické části sítnice, tak se tam nachází malá zánětlivá infiltrace (Deeg et al., 2002).

Cytologické vyšetření sklivce

U koní se zvyšující se neprůhledností sklivce bylo zjištěno zvýšení počtu středních a vysoce kvalitních buněk a jejich hladin ve sklivci. Světelným mikroskopem byly zjištěny Lymfocyty, plazmatické buňky, makrofágy a granulocyty. Byly ale detekovány sporadicky. Bylo zjištěno velké množství degenerovaných buněk ve vzorcích očí se sklivcovým zákalem. Hlavně se tam nacházelo velké množství lymfocytů a makrofágů. Významné rozdíly byly vidět v distribuci buněk. Hladina vysoce kvalitních lymfocytů ovládá kapalnou část sklivce. Jak již bylo napsáno dříve, byly ve vzorcích zjištěny protilátky proti *L. interrogans*. Což podporuje teorii infekce spojené s imunologickými procesy ve sklivci. Nejvyšší stupeň obsahu buněk byl zjištěn mezi 8 a 14 dnem po posledním počátku akutního zánětu oka. Po uplynutí této doby se koncentrace buněk snížila, ale nikdy nedosáhla koncentrace kontrolních buněk (Roth et al., 2014).

Epidemiologie

Země	% zastoupení
USA	2 - 25
USA (oboustranně oslepnutí koně)	1 - 2
Západní Evropa	3 - 10

Tabulka 1: Procentuální zastoupení v jednotlivých zemích

(Witkowski et al., 2016; Kulbrock et al., 2013 a)

Nejčastějším údajem je, že onemocnění ve světě se pohybuje okolo 7,6-8,3 % u nemocných koní s uveitidou. V některých studiích se nachází, že v populaci je prevalence onemocnění v rozmezí 2 do 25 %. Nedávné studie ukazují, že výskyt od 8 do 10 % je jak v USA, tak i v Evropě (Witkowski et al., 2016).

Studie také ukázaly, že v záplavových oblastech Evropy se výskyt onemocnění zvyšuje až na 70 %. Výskyt u lidí je značně nižší 8-115 na 100 000 lidí neboli 0,008-0,1 % populace. Proč jsou koně náchylnější než lidé, není prozatím objasněno (Malalana et al., 2015).

Citlivost obou očí je skoro stejná a přibližně 37 % koní trpících tímto onemocněním má postižené obě oči. Valaši jsou u tohoto onemocnění více zastoupení, ale to je dáno tím, že v populaci evropských koní je více valachů. Onemocnění se může objevit u koní všech věkových skupin. Nicméně Szemes a Gerhards zjistili, že 25 – 33 % koní starších 15 let bylo ovlivněno ERU. Jiná studie zase zjistila, že koně starší čtyř let jsou náchylnější na onemocnění než mladší koně čtyř let (Kulbrock et al., 2013 a).

Citlivost na uveitidu je rozdílná i mezi plemeny, nejčastěji je viděna u appaloosa koní, kteří jsou až osmkrát náchylnější k onemocnění a mají čtyřikrát větší pravděpodobnost oslepnutí (Malalana et al., 2015).

Po appaloosa koních jsou nejvíce náchylní němečtí teplokrevníci (Witkowski et al., 2016).

3.7 Diagnostika

Při vyšetření oka za pomoci štěrbinové lampy v temné místnosti, lze zjistit v akutní fázi záněty v oblasti zadního pólu čočky a ve sklivci. Fundu je přiměřeně zduřelý. Oko je ale velmi bolestivé a v takových případech se kůň seduje a oko se znečitliví. Oko lze znečitlivit za pomoci vyblokování nervů n. auriculopalpebralis a n. facialis, ale senzibilita oka a víček je zachována (Wintzer, 1999).

3.7.1 Diagnostika onemocnění způsobená Leptospirou

Po diagnostiku Leptosiry, jakožto jeden z původců měsíční slepoty je založena na klasických známkách uveitidy a opakujících se epizodách zánětu. Přímo na Leptospiru, která stojí za vznikem onemocnění neexistuje přímý specifický test (Marvanová et al., 2013).

Nepřímá diagnostika – průkaz protilátek metodou MAT

MAT neboli mikroskopický aglutinační test patří mezi základní testy a patří mezi nepoužívanější metody pro diagnostiku Leptosiry, považuje se za „zlatý střed“. Tento test funguje na principu reakce specifických protilátek s živými antigeny a jsou při použití živé

laboratorní kmeny. Pozitivitu testu zjistí pracovník laboratoře za pomoci mikroskopu a stanoví se „*aglutinaci až lýzu živých Leptospir z kultury*“ (Marvanová et al., 2013).

Princip této metody je založen na inkubaci živých laboratorních kmenů leptospir s neředěným sérem pacienta po dobu jedné hodiny při 37 °C. dále zjišťujeme zda vzorek aglutinuje a to pod mikroskopem a vzorek je v zástinu. Za pozitivní reakci můžeme považovat takovou, kdy v zorném poli mikroskopu v titru protilátek aglutinuje více jak 50 % leptospir. Pokud ale aglutinuje méně jak 50 % leptospir a volně se pohybují volně v zorném poli mikroskopu, tak je vzorek negativní. (Marvanová et al., 2013).

Titry protilátek Leptospiry (Pomona, Bratislava, grippotyphosa, icterohaemorrhagiae, canicola a hardjo) pomocí metody MAT

Uchovávání vzorků se provádí, tak že jeden mililitr sklivce a séra jsou zmraženy po dobu dvou hodin na -80 °C, to po dobu od odběru vzorků až po samotnou analýzu. Následně jsou vzorky hodnoceny za pomoci MAT a to na protilátky Pomona, Bratislava, grippotyphosa, icterohaemorrhagiae, canicola a hardjo“ (Marvanová et al., 2013)

Nepřímá diagnostika – průkaz protilátek metodou ELISA

Tento test není příliš vhodný, když hledáme nespecifický druh Leptospiry. Většinou se jedná o komerčně vyrobený test a je sestaven tak aby detekoval jen omezený počet specifických protilátek. (Marvanová et al., 2013).

Přímá diagnostika-kultivace leptospir na půdách

Pro tento test se používají tekutá či polotuhá média. Při pokusu se několik kapek krve, moči či likvoru aplikuje do zkumavek s Korthofovou půdou. Následně začíná samotná kultivace buď v termostatu při 28 °C nebo při pokojové teplotě. Poté se vzorek sleduje mikroskopicky v zástinu a to za 3 - 7 dní a pak také za 14 – 21 dní. Nevýhodou této metody je nízká záchytnost, časová náročnost a také nesterilní biologický materiál, hlavně moč, kdy se následně ve vzorku mohou pomnožit i jiné bakterie, které jsou nežádoucí a zkreslují výsledek. (Marvanová et al., 2013).

Přímá diagnostika – průkaz DNA patogenních leptospir metodou PCR

Tato metoda funguje na principu průkazu DNA leptospir ve vzorku. Komerčně vyráběné kity pro PCR diagnostiku leptospir se mohou lišit v amplifikaci různých úseků genů DNA. Tato metoda je velice dobrá, protože je použitelná i pro jiné klinické materiály, jako je například jaterní biopsie či jiné tělní tekutiny. Dále také za pomoci této metody je možno zachytit Leptospiry v prvních deseti dnech od nákazy v krvi, likvoru a také po týdnu v moči (Marvanová et al., 2013).

3.8 Terapie

Tím že ERU má více příčin, je její léčba více symptomatická (Witkowski et al., 2016).

Dvěma základními cíli léčby je zmírnit bolest a kontrolovat zánět. Podává se se 1 % atropinu buď samostatně, nebo v kombinaci s 10 % fenylefrinem. Jsou běžně podávány za účelem zbavení ciliární svalové křeče, dilatují zornice, snižují zánět a také k dosažení mydriázy. Nedochází ale k významnému zvýšení nitroočního tlaku, po dlouhodobé léčbě ale může dojít ke snížení nitroočního tlaku, a proto to má vliv na glaukomy. Frekvence dávkování závisí na reakci a jednou denně lokální podání většinou stačí až do odeznění zánětu. Pokud ale po 1% atropinu není vidět žádná změna a zánět se nelepší, může být použit 3 % atropin, ale v tuto chvíli se kuň musí kontrolovat, aby nedostal koliku. Takové množství atropinu může způsobit snížení pohyblivosti střev, což může vést k neprůchodnosti střev a k plynové kolice (Malalana et al., 2015; Curling, 2011; Mughannam et al., 1999)

Kortikosteoridy jsou nejdůležitější léky používané ke snížení zánětu. Dexamethason a prednisol jsou dva nejčastěji používané léky na zánět. Rozdíly mezi těmito léky jsou minimální, jediný rozdíl je, když se podávají nitroočně. Kdy pronikání prednisolu je vyšší než u dexamethasonu (Malalana et al., 2015).

Výše uvedené léky ale mohou mít za následek významné systémové vedlejší účinky hlavně po delším užívání, a tak mohou být pro léčbu omezující. Některé léky, hlavně hydrofobní, mohou narušit bariéru krvení sítnice. Intraokulární nebo periokulární injekce mohou dodávat relativně vysoké dávky léčiva s nejmenšími vedlejšími účinky. I tyto injekce mají svá rizika a musí se ve většině případech pravidelně opakovat v pravidelných intervalech. Hlavně spojení podávání léku s určitým nepohodlím, může být značně nepříjemné (Haghjou et al., 2011).

Kortikosteroidy jsou velmi účinné, ale jak bylo výše řečeno, mají závažné vedlejší účinky, proto existuje i alternativní léčba a to formou nesteroidních protizánětlivých léků, jako je indometecin, diklofenak a flurbiprofen. Lokální, anebo systémové nesteroidní protizánětlivé léky se běžně používají. Podávají se buď systémově, místně, periokulárně, nebo intraokulárně (Malalana et al., 2015).

Když je léčba jak steroidními, tak nesteroidními léky neúčinná, je možnost používat imunosupresiva, které jsou pro léčbu ERU vhodná. Patří mezi ně cyklosporin A, takrolimus a sirolimus. Mají také nežádoucí účinky, ale nejsou tak závažné jako kortikosteroidy. Proto je účinná terapie, když dojde k kombinování těchto léků v nižších dávkách. Podávání Cyklosporinu A sirolimu v prahových dávkách zmírňuje příznaky zánětu, ale s nižším výskytem vedlejších příznaků (Kulkarmi, 2004).

Dále také byla zkoušena metoda intravenózního podání enrofloxacinu a to za účelem vyléčení koně od Leptosiry. Tato léčba byla ale shledána jako ne moc vhodná z důvodu celkového podání léčiva. To ze dvou důvodů: za prvé bakterie nepřišla dostatečně do styku s antibiotikem, za druhé, protože mají zvýšenou necitlivost vůči enrofloxacinu (Popp et al., 2013).

Příklad lokální terapie

Při prvním zjištění onemocnění se podává 2 % atropinová mast ve 4 hodinových intervalech až do rozšíření pupily. Dále také 2 % atropinové oční kapky, které se podávají třikrát denně. Docílí se mydriázy a odsraní se bolestivý spasmus. Mohou se podávat adrenergika, které zlepšují účinek atropinu, jako je 5-10 % phenylephrin nebo 5 % kokainové kapky. Dále se podávají kortikoidy se silnými antialergickými a antiexsudativními účinky, jako je trimcinol, betametazon a také fumetazon. Doporučuje se s těmito léčebnými látkami zároveň podávat masti s obsahem antibiotika a dexametazonu, zpočátku nejméně čtyřikrát denně. Další alternativou jsou kapky, ale pro jejich krátkou účinnost nejsou moc vhodné. Aby se zabránilo recidivě, doporučuje se podávání lokálních kortikoidů nejméně 10-14 dní, až do odeznění zánětlivých příznaků. Pro snížení symptomů se také doporučují teplé obklady s heřmánkovým čajem několikrát denně ke zmírnění bolestí. Dále je vhodná ochrana oka před světlem, prachem, průvanem a dalším mechanickým poškozením, které by mohly zhoršit zdravotní stav zvířete (Wintzer, 1999).

Příklad celkové léčby

Při prvních příznacích onemocnění je doporučen pracovní klid ve stáji do úplného odeznění klinických příznaků. Pokud onemocnění je tvrdošijné, anebo perakutní, doporučuje se podání flumetazon nebo xematezonem. Může dojít i ke zvýšené teplotě u pacienta, například při možnosti infekce. Potom podání streptomycinu nebo tylosinu po dobu několika dnů. U onemocnění může dojít ke snížení prokrvení z důvodu působení antiprostaglandinů, a tím se také přispívá k zánětlivé reakci. Proto aby se snížila tato reakce podávají se protizánětlivé léky v podobě granulátu per os flunixin megluminu nebo 1,1 mg/kg intravenosně (i. M.), na závěr funylbutazon 2 g/den per os. Někteří autoři také doporučují autohemoterapii k profylaxi recidiv (Wintzer, 1999).

Snížení exsudace do přední oční komory a urychlení exsudace z přední oční komory

Pro snížení exsudace do přední oční komory se provádí podání 24% 200 g Calcium gluconicum i. v. po dobu tří dnů. A k urychlení resorpce exsudátu z přední oční komory denně po dobu pěti dní 8 g kalium jodatum do pitné vody (Wintzer, 1999).

3.8.1 Cyklosporin A

Další možností je podání Cyklosporinu A (CsA), který má velmi silně imunosupresivní účinky. Cyklosporin A inhibuje aktivaci lymfocytů prostřednictvím blokování řady cytokinů. Nejvíce IL – 2, IL – 4 a IFN – γ . Systémové požití Cyklosporinu A se začalo používat v lidské medicíně, ale náklady na tuto léčbu se ukázaly velmi nerentabilní. Lokální aplikace také není moc vhodná a to z důvodu nedostatečného proniknutí léčebné látky do struktur oka, kde je potřebná, proto se od lokálního podání upouští (Malalana et al., 2015)

Zavedením implantátu se snížila závažnost a trvání klinických příznaků, omezila opakování zánětu, snížení závažnosti zánětu a zvýšení odpovědi ostatních lokálních léků. Jsou zde i komplikace z důvodu zavedení implantátu a to glaukom sklivce (22 %), šedý zákal (16 %) a odchlípení sítnice (6 %). Tyto komplikace nakonec mohou vést ke slepotě koně. (Curling, 2011; Gilger et al., 2010).

Dlouhodobé užívání cyklosporinu A vede k zachování vidění. Zhoršení zraku je viděno u koní, kde je zřejmě vyčerpán cyklosporin v implantátu (Gilger et al., 2010)

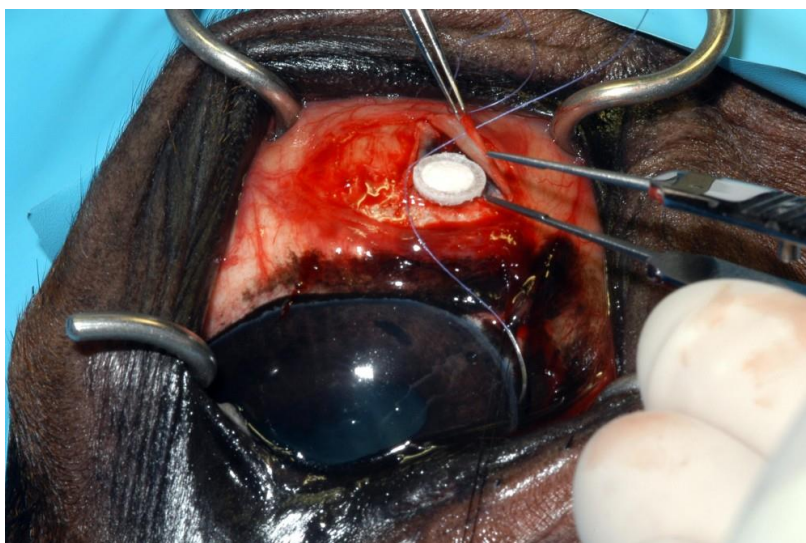
Byla provedena studie, při které byla koním podána látka, která vyvolala v očích experimentální zánět. Koním se zánětem byl implantován buď polymerní implantát (bez CsA) nebo náhodné podání CsA obou očím, následně jim bylo aplikováno 1 týden po implantaci zařízení 25 ug H37Ra-MTB antigenu. Klinické příznaky očního zánětu byly odstupňovány po injekci a implantaci. Bylo stanoveno množství zničené tkáně a přítomnost, počet a typ zánětlivých buněk. Dále se zjišťovala koncentrace CsA pomocí HPLC, za pomoci odebrání sklivce a periferní krve. Počet bílkovin, celkový počet T – lymfocytů, hladiny IL – 2 a IFN γ – mRNA byly výrazně nižší u očí s CSA ve srovnání s očima s polymerem. CsA zcela nebrání vzniku zánětlivé epizody, nicméně doba trvání a závažnost zánětu není tak destruktivní. Hladina zánětlivých cytokinů RNA je také výrazně nižší u očí s CsA (Gilger et al., 2000 a).

Samotný implantát je velmi dobře snášen bez dlouhodobých komplikací. Nicméně během chirurgického zákroku může dojít ke komplikacím, a to například způsobení traumatu nebo zanešení rány nečistotami. Proto je tato metoda z dlouhodobého hlediska vyhovující a bezpečná (Gilger et al., 2000 b).

Existuje ještě jedna možnost aplikace za pomoci mikrokuliček, které se nemusejí aplikovat pod narkózou jako implantát. Koncentrace léku v mikrokuličkách je od 11% do 16 % a vysokou zachycovací účinností, která je až 98 %. Tyto mikrokuličky jsou diskrétní o velikosti přibližně 50 μ m. Tyto mikrokuličky pomalu a neustále uvolňují léčivou látku a udržují jí v terapeutických koncentracích po dobu 65 dnů (He et al., 2006).

Záleží také na tom, kam byl implantát dán. Například implantát zavedený do episclerally nedokáže udržet pod kontrolou zánětlivé epizody. Nicméně umístění lamelového implantátu s CsA do prostoru bělimy přiléhající k suprachoroidálnímu prostoru je velmi účinné a vede k dosažení terapeutické hladiny léku v oku. Frekvence zánětlivých epizod byl po implantaci do bělimy lamelového CsA implantátu výrazně snížena. Zavedení CsA přes bělimu z episklerálního prostoru je neproveditelný způsob podávání léku do oka (Gilger et al., 2006).

Byly zkoušeny i jiné látky krom Cyclosporinu A, jako je například takrolimus a rapamycin. Tyto látky mají velmi podobný mechanismus účinku jako CsA, ale jsou účinnější (Malalana et al., 2015).



Obrázek 4: Zavedení implantátu s Cyclosporinem A do bělmy

Dostupné z <<http://www.merckvetmanual.com/eye-and-ear/equine-recurrent-uveitis/overview-of-equine-recurrent-uveitis>>

3.8.2 Vitrektomie

Klasická léčba uveitidy je, jak bylo výše napsáno mydriatika, kortikosteroidy a nesteroidní protizánětlivé léky. U lidských pacientů s axiálními záněty, u kterých byla provedena vitrektomie za účelem odstranění zánětu, byly pozorovány změny, a to ve snížení četnosti a závažnosti uveálních relapsů (Curling, 2011).

Werry a Gerhards ve své studii zkoumali 11 koní, u 10 koní byla provedena vitrektomie. Všechny koně trpěli 3 nebo více četnými uvetickými epizodami. Ve všech případech při propuštění z kliniky měli menší zákal komory sklivce. V následujících vyšetřeních byl kontrolován tlak. Osm očí z deseti mělo normální i. o. tlak a dva z deseti měli subnormální i. o. tlak. Po operaci nebyly již pozorovány uveální útoky. Pooperační komplikace byly fibrózní nebo fibrózní-hemorhagický exsudát v přední komoře u všech očí, také menší krvácení do komory sklivce. Předběžné výsledky ukázaly, že když se vyberou správné případy a přesný operační postup u pars plana vitrektomie, tak může dojít ke zlepšení zraku a oddálení progresivních komplikací u onemocnění (Werry a Gerhards, 1999).

3.8.3 Terapie u appaloosa koní

Cyklosporin A je silný imunosupresivní lék, který se používá u koní s ERU ve formě suprachoroidálního CSA implantátu, který obsahuje vysoké koncentrace léku. Tato možnost by měla být velmi účinná u appaloosa koní, kteří mají zvláštní typ uveitidy. U těchto koní bylo zjištěno, že *Leptospira* jakožto příčina onemocnění je méně častá než u ostatních koní. Vzhledem k menšímu zapojení *Leptospiry*, u již zmíněných koní, je vitrektomie dobrá jen na odstranění zákalu ve sklivci, ale ne pro zastavení zánětlivé epizody. Suprachoriální CsA - implantát s kontinuálním uvolňováním CsA do tkání a tekutin oka, může být výhodou pro koně s plíživou uveitidou a pro řízení chronického zánětu jako konzervativní terapie. Pro zavedení implantátu je nutné zajistit, aby byla provedena léčba u koní s negativním potvrzením testů na *Leptospiru*. Vzhledem k tomu, že koně se zákeřným typem uveitidy jsou často prezentovány jako koně s inverzibilní poruchou vidění, které nemohou být úplně odstraněny implantátem, proto se doporučuje rutinní oční vyšetření u výše zmíněných koní (Baumgart a Gerhards, 2014).

3.8.4 Kmenové buňky (MSC)

MSC jsou dospělé kmenové buňky, které jsou schopny sebeobnovy a diferenciací do omezeného multiorgánového specifického typu buněk (Schauwer et al., 2013).

V poslední době bylo pozorováno aplikování MSC u pacientů s onemocněním zánětlivého nebo imunologického původu, hlavně v lidském odvětví onemocnění. Kdy kmenové buňky velmi dobře potlačují i T – buňky, proto se velmi dobře hodí na léčbu onemocnění, které byli vyjmenovány výše. Mezi tyto onemocnění patří právě měsíční slepota, a proto by tato léčba mohla být budoucnost pro terapii toho onemocnění (Koch et al., 2009).

Terapeutický potenciál mezenchymovými kmenovými buňkami (MSC), je schopnost podporovat regeneraci tkání, prevence tvorby patologické jizvy, modulovat imunitní odpověď a regulovat zánět. Mezenchymové kmenové buňky je možné získat z kostní tkáně, tukové tkáně a pupečnickové krve. MSC je v dnešní době hlavně používána na problémy s pohybovým aparátem u zvířat. U lidí je zaměření jiné, a to na imunitní, zánětlivé a ischemické onemocnění (Schauwer et al., 2013).

Je také rozdíl v použití kostní dřevě a tukové tkáně. Tuková tkáň se velice dobře diferencuje do muskuloskeletární tkáně, zato kostní dřevě v této oblasti není tak efektivní.

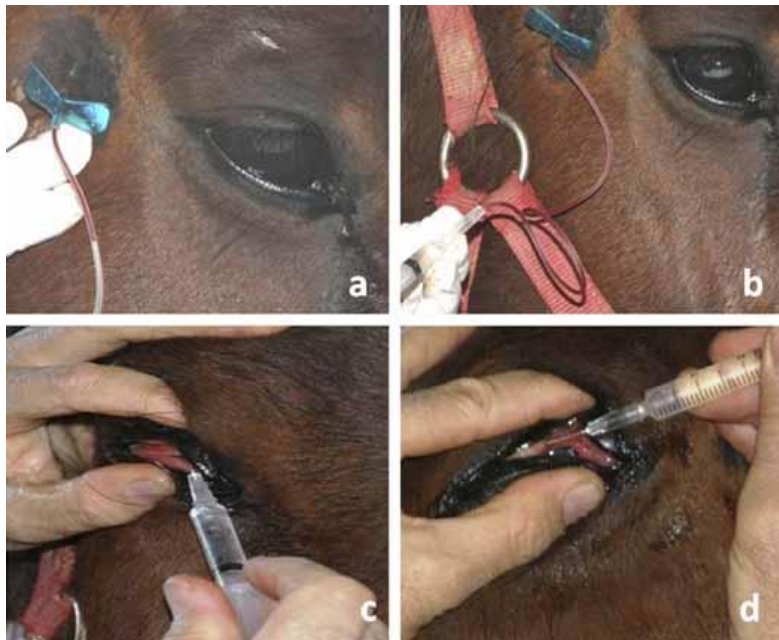
Kostní dřev se velice dobře diferencuje do ostatních tkání, v kterých je zase tuková tkáň horší (Frisbie a Smith, 2010).

Izolace kmenových buněk z kostní dřevě nebo štěpených tkáňových extraktů, je nejčastěji dosaženo jednoduchou adhezí a proliferací MSC do tkáňových kultivačních ploch. Tato technika také není neomylná, protože dochází ke kontaminaci fibroblast, které se taky velmi dobře množí a poté nemůžeme čekat takové výsledky v léčbě. Naproti tomu, kdyby se používali jen čistě homogenní buňky, v tu chvíli by to bylo nejideálnější a léčba by byla nejefektivnější. Výzkumníci v současné době pracují na přísnějším způsobu izolace kmenových buněk. Chtějí toho dosáhnout tím, že zlepší identifikaci MSC buněk za pomoci buněčných kmenových antigenů (Frisbie a Smith, 2010).

Kmenové buňky BDSCs

Marfe G. a spol. dělali výzkum, při kterém zkoumali, jak koně s ophthalmologickými problémy budou reagovat na léčbu kmenovými buňkami. Měli pět subjektů, mezi nimi byl jeden třináctiletý valach s rohovkovými vředy, které měl po komplikaci z ERU. BDSCs bylo odebráno ze stejných zvířat, na které se tato léčba bude aplikovat a po izolaci autogenních kmenových buněk periferní krve, byly následně aplikovány přes oční tepnu koním do oka. Podání ale nemusí být jen intaarteriální pomocí katétru, ale také intravenózní a místně pomocí očních kapek používaných třikrát denně po dobu dvou týdnů. Poslední možnost je subkonjunktivální injekce. U výše zmíněného koně byl před léčbou kmenovými buňkami podáván denně tobramycin a 1 % atropin jako oční kapky. Vřed ale zůstal stejný a patrný i po dvou týdnech léčby. Zvíře tedy podstoupilo léčbu kmenovými buňkami a to jak

systemovou, tak také lokální po dobu dvou týdnů dvakrát denně. Po této léčbě došlo k výraznému zlepšení a vřed rohovky zcela zmizel (Marfe et al., 2012).



Obrázek 5: Aplikace kmenových buněk (a, b – intraarteriální aplikace pomocí katétru; c, d – další možnosti aplikace)

(Marfe et al., 2012)



Obrázek 6: výrazné zlepšení po aplikaci kmenovými buňkami u koně s rohovkovými vředy vytvořenými jako komplikace měsíční slepoty (a– kůň před zahájením léčby; b, c – během léčby; d – po ukončení léčby kmenovými buňkami)

(Marfe et al., 2012)

3.8.5 Alfa – tocoferol jako ochrana proti oxidačnímu stresu

Sítnice obsahuje vysoký podíl PUFA, zejména kyselinu dokosaheptaenovou a kyselinu arachidonovou. Peroxidace lipidů u koní z ROS, vyvolané Fe²⁺ - ascorbate, byly monitorovány za použití chemiluminiscence (CL). Buď s, anebo bez použití úpravy s alfa Toc. Dle předběžného zpracování se zjistilo, že hodnoty CL byly významně sníženy. Dále nejhojnější významná mastná kyselina je 22,6 n-3 (Whigham et al., 1999).

Po 3 hodinách inkubace se 95 % z celkového počtu PUFA bylo zničeno za pomoci peroxidace. Zatímco u vzorků s alfa – Toc. se procento zničení výrazně snížilo. Výsledky ukazují, že sítnice má endogenní rozpustný v tucích antioxidační systém. ROS je vysoce citlivé na oxidační poškození, neboť jeho složení z masných kyselin se v průběhu peroxidace lipidů výrazně změní. Ochranná funkce alfa – Toc jakožto antioxidantu je zřejmá, proto by mohl být použit při léčení očních onemocnění koní, kterých se účastní volné radikály (Whigham et al., 1999).

3.8.6 Očkování proti Leptospire a následná progresi v onemocnění

Byla provedena studie, do které byla vybrána skupina koní a která byla následně rozdělena na kontrolní skupiny a skupinu, která byla očkovaná. Vakcíny obsahovaly šest sérovarů a následně byly odebrány vzorky krve ve dnech 0, 28, 180 a 365 na titry protilátek (Rohrbach et al., 2005).

Recidiva onemocnění byla pozorována u 7/20 (35%) očkovaných koní a 12/21 (57%) kontrolních koní. U 13/20 (65%) očkovaných koní došlo k progresi onemocnění oproti kontrolní skupině 12/21 (57%) (Rohrbach et al., 2005).

Očkování zvýšila průměrnou hodnotu titru protilátek v séru. Den 0 je 225 následně 4077 a 593 ve dnech 28 a 180, přesně v uvedeném pořadí. Došlo také k výrazně delší době, než přišla další recidiva u očkované skupiny (medián 126 dní a v rozmezí 24-231 dní), ve srovnání s kontrolní skupinou (medián 86 dní a rozmezí 14-192 dní) (Rohrbach et al., 2005).

3.9 Prognóza a prevence

Prognóza vzhledem k tomu, že onemocnění má opakující se progresivní záněty, které vedou často ke slepotě, není moc pozitivní. Vikteromi je velmi dobrý způsob, jak eliminovat recidivy a zachovat aktuální stav nemoci (Frellstedt, 2009).

Dopad ERU byl zkoumán v jedné studii, kde zjistili, že největší dopad má na appaloosa koně. appaloosa koně byli více zastoupeni než ostatní plemena koní, přitom celkový počet byl 224 koní. Dále v této skupině kromě appaloosa koní byli hanoverští koně a ostatní teplokrevníci. Všechny koně v této studii byli léčeni lokálně a systémově, různými léky v různých fázích onemocnění. Pro majitele v této fázi může nastat problém, protože medikamentózní léčba se podává pravidelně, pro koně je to nepříjemné a záleží jen na schopnostech majitele a jeho zodpovědnosti. Pro koně je podávání léčiva velmi nepohodlné, hlavně díky častému podávání, proto to na koně má neblahý vliv a může to u něj narušit výcvik a také celkový výkon. U některých léků se také musí dávat pozor na látky, které vedou k diskvalifikaci při soutěžích (Gerding a Gilger, 2016).

Ekonomické zatížení majitele a následné sportovní využití koně

U onemocnění dochází velmi často ke slepotě jak jednostranné, tak oboustranné. Tato skutečnost by mohla mít vliv na počet sázek, proto dochází k poklesu příjmu vlastníka (Gerding a Gilger, 2015).

Ve většině států je povoleno závodit koním jednostranně slepým nebo s odstraněným jedním okem, ale koním, kteří jsou buď slepý na obě oči, nebo mají odstraněny obě oči, není dovoleno zúčastnit se vybraných soutěží. Koně, kteří se vrátili zpět do sportu, startovali na nižších stupních než před prvním záchvatem téměř v polovině případů. Většina koní se ale nevrátila do své původní funkce (29,4 %). Proto tako zásadní změna u koně může přímo ovlivnit jeho život, např.: vztahův vztah, hodnotu a účel existence (Gerding a Gilger, 2015).

U koní při oslepnutí dochází také ke ztrátě peněžní hodnoty. Koně s ERU se hůře prodávají a následná léčba přechází na nového majitel, a tím vzrůstá i jeho peněžní zatížení, proto dochází k poklesu prodejní ceny koně. Hodnota koní se snižuje, ale náklady na léčbu a diagnostiku onemocnění se pro prodávajícího zvyšují. Celkové náklady v Americe dosahují až 3000 dolarů. Finanční schopnosti vlastníka jsou proto velmi důležité pro koně a jejich léčbu, aby se mohli následně vrátit do své původní funkce. Přicházejí další problémy jako stres, bolesti očí, hospitalizace, doprava, sedace a anestezie. Kromě toho že dojde ke zhoršení zraku, nebo až oslepnutí. Dochází k tomu, že koně jsou neovladatelní a nebezpeční pro své vlastníky, což vede k euthanasii. Vzhledem k chronické povaze onemocnění, další majitelé nemají důvod

dávat tak velké finanční náklady do ustájení koní a léčby. V této studii 19 koní bylo usmrceno (8,5%) (Gerding a Gilger, 2015).

Následky jsou velmi rozsáhlé a dochází k zákalům rohovky a to jak pruhovitým, tak i ke skvrnitým. S tím je spojena i ztráta barvy iris. Dále snížení nebo úplná ztráta reakce na světlo, pro částečnou nebo totální adhezi zadní plochy duhovky a přední plochou čočky. Zbytky takových adhezí jsou vidět po medikamentózní dilataci pupily. U *seclusio pupillae* vzniká nebezpečí zvýšení tlaku v zadní komoře. Difuzní nebo ohraničený zákal čočky po dalších záchvatech zánětu subluxace nebo luxace zkalené čočky do sklivce. Difuzní nebo obláčkovitě, resp. závojovité zákaly sklivce s tvorbou rosolu; degenerativní změny sítnice s ohraničenými okrsky chorioretinálních žizev a parciálním nebo totálním odchlípením sítnice. Atrofie řasnatého tělíška vede časem ke snížení zpočátku zvýšené produkci komorového moku a společně s degenerativními změnami na ostatních částech střední cévní vrstvy oka k atrofii bulbu, která je v pokročilém stádiu zřejmá již na dálku výhřezem třetího víčka a vytvořením třetího koutku. K phthisis bulbi dochází při desintegraci struktur oka (Wintzer, 1999).

3.10 Prevence

Při výběru hřebců k plemenitbě by se na toto onemocnění mělo testovat a při zjištění tohoto onemocnění vyřadit z chovu (Frellstedt 2009; Wintzer, 1999).

Prevence proti Leptospiře

Proti Leptospiře existuje vakcinace, a proto se doporučuje pravidelná vakcinace na tuto bakterii, protože patří mezi příčiny. Dále řízení divoké zvěře na farmách, hlavně hlodavců, kteří jsou přenašeči Leptosiry tak, aby se zabránilo kontaminaci potravy s následným přenosem na konečného hostitele v tomto případě na koně (Frellstedt 2009; Wintzer, 1999).

Na téma prevence proti leptospiře, byla provedena studie, kde byli vybráni koně a následně rozděleni do skupin. Jedna skupina byla naočkována proti leptospiře a druhá skupina byla kontrolní. Vakcíny obsahovaly šest sérovarů, následně byli aplikováni první skupině. Poté byla odebrána krev ve dnech 0, 28, 180 a 365 na titry protilátek. Recidiva onemocnění byla pozorována u 7/20 (35%) očkovaných koní a 12/21 (57%) kontrolních koní. U 13/20 (65%) očkovaných koní došlo k progresi onemocnění oproti kontrolní skupině 12/21 (57%) (Rohrbach et al., 2005).

Výsledky očkování byli velmi zajímavé a došlo ke zvýšení průměrných hodnot titru protilátek v séru. Dále také došlo k prodloužení klidové doby mezi dvěma zánětlivými epizodami (medián 126 dní a v rozmezí 24-231 dní), ve srovnání s kontrolní skupinou (medián 86 dní a rozmezí 14-192 dní) (Rohrbach et al., 2005).

4 Závěr

Celkově se tato práce zabývá hlavně etiologií a terapií. Kdy etiologie je velmi rozdílná a liší se i podle toho, v jaké zemi se studie dělala. Došla jsem ale k závěru, že příčina není jen jedna, ale je celý systém příčin, které přispívají k tomu, aby se onemocnění provalilo. Mezi hlavní příčiny patří *Leptospira*, ale nebyla nalezena u všech nemocných koní. Dále genetická predispozice, ale pokud jsou koně v prostředí bez mikrobů, tak se onemocnění neprovalí, jakmile se ale dostanou do prostředí s mikroby, onemocnění se ukáže. Další je autoimunitní příčina, kdy autoři uvádějí určitou individuální predispozici. Z toho vyplývá, že jen nakažení *Leptospirou* nemusí přispět k tomu, aby se onemocnění projevilo. A proto si myslím, že je to komplexnější systém příčin.

Léčba ERU jde velmi dopředu, nabízí se velmi dobré řešení, pokud nefunguje klasická léčba mydriatiky, potom přistupuje zavedení implantátu s cyklosporinem A. Doba mezi dvěma epizodami zánětu se prodlouží a sníží se destrukční účinky zánětu ve vnitřních strukturách oka. Jestliže ani tato léčba nefunguje, přistoupí se k vitrektomii. Léčba kmenovými buňkami je metoda budoucnosti a myslím si, že to je velmi dobré řešení léčby pro budoucí generace.

Dnešní chápání měsíční slepoty jde od dob minulých značně vpřed, proto doufám že v budoucnu bude toto onemocnění jen minulostí a tom jak v koňské tak i v lidské populaci.

5 Seznam literatury

Ferenčík, M., Rovenský, J., Shoenfeld, Y., Mařha, V. 2005. Imunitní systém: informace pro každého. Grada Publishing, a.s. Praha. 236 str. ISBN: 8024711966.

Baumgart, A., Gerhards, H., 2014. Characteristics of uveitis in horses with leopard coat color and potential use of cyclosporine A in its therapy in Germany. *Pferdeheilkunde*. 30 (6). 626 - 632.

Båverud, V., Gunnarsson, A., Engvall, E. O., Franzén, P., Egenvall, A. 2009. Leptospira seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 51 (1). 1-10.

Brandes, K., Wollanke, B., Niedermaier, G., Brem, S., Gerhards, H. 2007. Recurrent Uveitis in Horses: Vitreal Examinations with Ultrastructural Detection of Leptospire. *Transboundary and Emerging Diseases*. 54 (5). 270-275.

Cibulski, S., Wollanake, B. 2016. Testing wild small mammals and water samples for pathogen leptospires using real-time PCR. *PFERDEHEILKUNDE*. 32 (6). 635-641.

Curling, A. Equine recurrent uveitis: treatment. [Online]. Continuing Education for Veterinarians. Juny 2011. [cit. 2013]. Dostupné z <http://assets.prod.vetlearn.com.s3.amazonaws.com/a7/d66d409da411e087120050568d3693/file/PV0611_Curling2_CE.pdf>

Deeg, C. A. 2008. Ocular immunology in equine recurrent uveitis. *Veterinary Ophthalmology*. 11 (1). 61-65.

Deeg, C. A., Kaspers, B., Gerhards, H., Thurau, S. R., Wollanke, B., Wildner, G. 2001. Immune Responses to Retinal Autoantigens and Peptides in Equine Recurrent Uveitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 42 (1). 393-398.

- Deeg, C. A., Ehrenhofer, M., Thureau, S. R., Reese, S., Kaspers, B., Wildner, G. 2002. Immunopathology of Recurrent Uveitis in Spontaneously Diseased Horses. *Experimental Eye Research*. 75 (2). 127-133.
- Degroote, R. L., Hauck, S. M., Amann, B., Hirmer, S., Ueffing, M., Deeg, C. A. 2014. Unraveling the Equine Lymphocyte Proteome: Differential Septin 7 Expression Associates with Immune Cells in Equine Recurrent Uveitis. *PLOS ONE*. 9 (3)
- Degroote, R. L., Hauck, S. M., Kremmer, E., Amanna, B., Ueffing, M., Deega, C. A. 2012. Altered expression of talin 1 in peripheral immune cells points to a significant role of the innate immune system in spontaneous autoimmune uveitis. *Journal of Proteomics*. 75 (14). 4536 - 4544.
- Eberhardt, Ch., Amann, B., Feuchtinger, A., Hauck, S. M., Deeg, C. A. 2011. Differential expression of inwardly rectifying K⁺ channels and aquaporins 4 and 5 in autoimmune uveitis indicates misbalance in Müller glial cell-dependent ion and water homeostasis. *GLIA*. 59 (5). 697-707.
- Frellstedt, L. 2009. Equine recurrent uveitis: A clinical manifestation of leptospirosis, *Equine Veterinary Education*. 21 (10). 546-552.
- Frisbie, D. D., Smith, R. K. W. 2010, Clinical update on the use of mesenchymal stem cells in equine orthopaedics. *EQUINE VETERINARY JOURNAL*. 42 (1). 86-89.
- Fritz, K. L., Kaese, H. J., Valberg, S. J., Hendrickson, J. A., Rendahl, A. K., Bellone, R. R., Dynes, K. M., Wagner, M. L., Lucio, M. A., Cuomo, F. M., Brinkmeyer-Langford, C. L., Skow, L. C., Mickelson, J. R., Rutherford, M. S., McCue, M. E. 2014. Genetic risk factors for insidious equine recurrent uveitis in Appaloosa horses. *Animal Genetics*. 45 (3). 392-399.
- Gerding, J. C., Gilger, B. C. 2015. Prognosis and impact of equine recurrent uveitis. *Equine Veterinary Journal*. 48 (3). 290-298.
- Gilger, B. C., Malok, E., Stewart, T., Ashton, P., Smith, T., Jaffe, G. J., Allen, J. B. 2000 b. Long-term effect on the equine eye of an intravitreal device used for sustained release of cyclosporine A. *Veterinary Ophthalmology*. 3 (2-3). 105-110.

Gilger, B. C., Salmon, J. H., Wilkie, D. A., Cruysberg, L. P. J., Kim, J., Hayat, M., Kim, H., Kim, S., Yuan, P., Lee, S. S., Harrington, S. M., Murray, P. R., Edelhauser, H. H., Csaky, K. G., Robinson, M. R. 2006. A Novel Bioerodible Deep Scleral Lamellar Cyclosporine Implant for Uveitis. *Physiology and Pharmacology*. 47 (6). 2596-2605.

Gilger, B. C., Wilkie, D. A., Clode, A. B., McMullen, R. J., Utter, M. E., Komaromy, A. M., Brooks, D. E., Salmon, J. H. 2010. Long-term outcome after implantation of a suprachoroidal cyclosporine drug delivery device in horses with recurrent uveitis. *ETERINARY OPHTHALMOLOGY*. 13 (5). 294-300.

Gilger, B. C., Malok, E., Stewart, T., Horohov, D., Ashton, P., Smith, T., Jaffe, G. J., Allen, J. B. 2000 a. Effect of an intravitreal cyclosporine implant on experimental uveitis in horses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 76 (3-4). 239-255.

Gilger, B. C., Maloka, E., Cutter, K. V., Stewart, T., Horohovd, D. W., Allen, J. B. 1999. Characterization of T-lymphocytes in the anterior uvea of eyes with chronic equine recurrent uveitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 71 (1). 17-28.

Haghjou, N., Soheilian, M., Abdekhodaie, M. J. 2011. Sustained Release Intraocular Drug Delivery Devices for Treatment of Uveitis. *Ophthalmic & vision research*. 6 (4). 317-329.

Halliwell, R. E., Hines, M. T. 2009. Studies on equine recurrent uveitis. I: Levels of immunoglobulin and albumin in the aqueous humor of horses with and without intraocular disease. 4 (10). 1023-1031.

Hartskeerl, R. A., Goris, M. G. A., Brem, S., Meyer, P., Kopp, H., Gerhards, H., Wollanke, B. 2004. Classification of *Leptospira* from the Eyes of Horses Suffering from Recurrent Uveitis. *Zoonoses and Public Health*. 51 (3). 110-115.

Hauck, S. M., Hofmaierb, F., Diettera, J., Swadzbab, M. E., Blinderta, M., Amannb, B., Behlera, J., Kremmerd, E., Ueffing, M. 2012. Label-free LC-MSMS analysis of vitreous from autoimmune uveitis reveals a significant decrease in secreted Wnt signalling inhibitors DKK3 and SFRP2. *Journal of Proteomics*. 75 (14). 4545-4554.

- He, Y., Liu, Y., Liu, Y., Wang, J., Zhang, X., Lu, W., Ma, Z., Zhu, X., Zhang, Q. 2006. Cyclosporine-Loaded Microspheres for Treatment of Uveitis: In Vitro Characterization and In Vivo Pharmacokinetic Study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 47 (9). 3983-3988.
- Hofmaier, F., Hauck, S. M., Amann, B., Degroote, R. L., Deeg, C. A. 2011. Changes in Matrix Metalloproteinase Network in a Spontaneous Autoimmune Uveitis Model. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 52 (5). 2314-2320.
- Houwers, D. J., Goris, M. G. A., Kas A. J. A. 2011. Agglutinating antibodies against pathogenic *Leptospira* in healthy dogs and horses indicate common exposure and regular occurrence of subclinical infections. *Veterinary Microbiology*. 148 (2-4). 449-451.
- Koch, T. G., Berg, L. C., Betts, D. H. 2009. Current and future regenerative medicine — Principles, concepts, and therapeutic use of stem cell therapy and tissue engineering in equine medicine. *Can Vet J*. 50 (2). 155-165.
- Kuchynka, P., Autrata, R., Boguszakova, J., Diblík, P., Hlinomazová, Z., Jelínek, R., Kocur, I., Krásný, J., Kuchynková, Z., Novák, P., Říhová, E., Souček, P., Stejskal, D., Šach, J., Vanek, I. J., Vlková, E., Výborný, P. 2007. *Oční lékařství*. Grada Publishing, a.s. Praha. 812 str. ISBN: 978 - 80-247-1163-8.
- Kulbrock, M., Distl, O., Ohnesorge, B., 2013 a. A Review of Candidate Genes for Development of Equine Recurrent Uveitis. *Journal of Equine Veterinary Science*. 33 (11). 885-892.
- Kulbrock, M., Lehner, S., Metzger, J., Ohnesorge, B., Distl O. 2013 b. A Genome-Wide Association Study Identifies Risk Loci to Equine Recurrent Uveitis in German Warmblood Horses. *PLOS ONE*. 8 (8).
- Kulkarni, P. 2004. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. Uveitis and Immunosuppressive Drugs. 17 (2). 181-187.
- Malalana, F., Stylianidesb, A., McGowan, C. 2015. Equine recurrent uveitis: Human and equine perspectives. *The Veterinary Journal*. 206 (1). 22-29.

- Marfe, G., Massaro-Giordano, M., Ranalli, M., Cozzoli, E., Stefano, C. D., Malafoglia, V., Polettini, M., Gambacurta, A. 2012. Blood derived stem cells: An ameliorative therapy in veterinary ophthalmology. *Journal of Cellular Physiology*. 227 (3). 1250-1256.
- Marvanová, T., Kodým, P. 2013. Laboratorní diagnostika leptospirózy. Zpráva centra epidemiologie a mikrobiologie (SZÚ, PRAHA). 22 (6). str. 204-205.
- Matthews, A. G. 2014. Clinical ophthalmic challenges in the horse: a retrospective view forward. *Veterinary Ophthalmology*. 17 (1). 2-5.
- Mughannam, A. J., Buyukmihci, N. C., Kass, P. H. 1999. Effect of topical atropine on intraocular pressure and pupil diameter in the normal horse eye. *Veterinary Ophthalmology*. 2 (4). 213 - 215.
- Najbrt, R., Slezáková, N. 1980. Veterinární anatomie II. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 594 str. ISBN: 07-006-82-04.
- Popp, M., Gerhards, H. Wollanke, B. 2013. Enrofloxacin concentrations in the vitreous of horses with equine recurrent uveitis (ERU) after repeated intravenous administration. *PFERDEHEILKUNDE*. 5 (29). 547-580.
- Reece, W. O. 2011. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat - 2., rozšířené vydání. Grada Publishing a.s. Praha. 473 str. ISBN: 8024732823
- Rohrbach, B. W., Ward, D. A., Hendrix, D. V. H., Cawrse-Foss, M., Moyers, T. D. 2005. Effect of vaccination against leptospirosis on the frequency, days to recurrence and progression of disease in horses with equine recurrent uveitis. *Veterinary Ophthalmology*. 8 (3). 171-179.
- Roth, T., Brandes, K., Gerhards, H., Giving, E., Wollanke, B. 2014. *PFERDEHEILKUNDE*, Histological studies on the vitreous body of horses with Equine Recurrent Uveitis, 5(30). 512-520.
- Shoenfeld, Y., Fučíková, T., Bartůňková, J. 2007. Autoimunita: Vnitřní nepřítel. Grada Publishing, a.s. 96 str. ISBN: 9788024720449.

- Schauwer, C. A., Meyer, E., Walle, G. V., Soom, A. V. Current clinical applications of equine mesenchymal stem cells: update. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. 82 (6). 327-336.
- Schauwer, C. D., Walle, G. R. V., Soom, A. V., Meyer, E. 2013. Mesenchymal stem cell therapy in horses: useful beyond orthopedic injuries?. *Veterinary Quarterly*. 33 (4). 234-241.
- Swadzba, M. E., Hauck, S. M., Naim, H. Y., Amann, B., Deeg, C. A. 2012 b. Retinal Glycoprotein Enrichment by Concanavalin A Enabled Identification of Novel Membrane Autoantigen Synaptotagmin-1 in Equine Recurrent Uveitis. *PLoS ONE*. 7 (12).
- Swadzba, M. E., Hirmer, S., Amann, B., Hauck, S. M., Deeg, C. A. 2012 a. Vitreal IgM Autoantibodies Target Neurofilament Medium in a Spontaneous Model of Autoimmune Uveitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* January. 53 (1). 294-300.
- Synek, S., Skorkovská, Š. 2014. *Fyziologie oka a vidění: 2., doplněné a přepracované vydání*. Grada Publishing, a.s. Praha. 96 str. ISBN: 978-80-247-3992-2.
- Terrasa, A. M., Guajardo, M. H., Marra, C. A., Zapata, G. 2009. α -Tocopherol protects against oxidative damage to lipids of the rod outer segments of the equine retina. *The Veterinary Journal*. 182 (3). 463-468.
- Uhl, P. B., Amann, B., Hauck, S. M., Deeg, C. A. 2015. Novel Localization of Peripherin 2, the Photoreceptor-Specific Retinal Degeneration Slow Protein, in Retinal Pigment Epithelium. *International Journal of Molecular Sciences*. 16(2). 2678-2692.
- Verma, A., Stevenson, B., Adler, B. 2013. Leptospirosis in horses. *Veterinary Microbiology*. 167 (1-2). 61-66.
- Verma, A., Matsunaga, J., Artiushina, S., Pinne, M., Houwers, D. J., Haake, D. A., Stevenson, B., Timoney, J. F. 2012. Antibodies to a Novel Leptospiral Protein, LruC, in the Eye Fluids and Sera of Horses with Leptospira-Associated Uveitis. *Clinical and Vaccine Immunology*. 19 (3). 452-456.
- Wangdi, C., Picard, J., Tan, R., Condon, F., Dowling, B., Gummow, B. 2013. Equine leptospirosis in tropical Northern Queensland. *Australian Veterinary Journal*. 91 (5). 190-197.

Werry, H., Gerhards, H. 1992. The surgical therapy of equine recurrent uveitis. *Tierärztliche Praxis*. 20 (2). 178-186.

Whigham, H. M., Brooks, D. E., Andrew, S. E., Gelatt, K. N., Strubbe, Biros, D. J. 1999. Treatment of equine glaucoma by transscleral neodymium: yttrium aluminum garnet laser cyclophotocoagulation: a retrospective study of 23 eyes of 16 horses. *Veterinary Ophthalmology*. 2 (4). 243-250.

Wintzer, H. J. 1999. *Choroby koní, nemoci koni: sprievodca štúdiom a praxou*. H&H. 538 str. ISBN: 8088700450.

Witkowskia, L., Cywinskab, A., Paschalis-Trelaa, K., Crismanc, M., Kitaa J. 2016. Multiple etiologies of equine recurrent uveitis – A natural model for human autoimmune uveitis: A brief review. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 44. 14-20.

Wollanke, B., W. Rohrbach, B., Gerhards, H. Serum and vitreous humor antibody titers in and isolation of *Leptospira interrogans* from horses with recurrent uveitis. *Journal of the American Veterinary*. 219 (6). 795-800.

Zipplies, J. K., Hauck, S. M., Schoeffmann, S., Amann, B., Meijden, CH. H., Stangassinger, M., Ueffing, M., Deeg, C. A. 2010. Kininogen in Autoimmune Uveitis: Decrease in Peripheral Blood Stream versus Increase in Target Tissue. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* January. 51 (1). 375-382.

Obr. 5,6: Marfe, G., Massaro-Giordano, M., Ranalli, M., Cozzoli, E., Stefano, C. D., Malafoglia, V., Poletini, M., Gambacurta, A. 2012. Blood derived stem cells: An ameliorative therapy in veterinary ophthalmology. *Journal of Cellular Physiology*. 227 (3). 1250-1256.