

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrochemie, přírodních a potravinových zdrojů

Katedra obecné zootechniky a etologie



Kontrola genetické oční vady CEA

– Anomálie oka kolií v ČR

Diplomová práce

Vedoucí práce: Ing. Ivona Svobodová, Ph.D.

Autor práce: Hana Kopáčová

2012

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Kontrola genetické oční vady CEA - Anomálie oka kolií v ČR,“ zpracovala samostatně s přispěním vedoucí diplomové práce a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze, dne 1.4.2012

.....

podpis autora práce

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala Ing. Ivoně Svobodové, Ph.D. za vedení, podporu a cenné rady i připomínky při zpracování diplomové práce.

Dále děkuji MVDr. Barbaře Lenské za odborné konzultace a veškeré informace, které mi poskytovala v průběhu všech let spolupráce.

Obsah

1. Úvod	5
2. Cíl práce	6
2.1. Hypotéza	6
3. Literární rešerše	7
3.1. Charakteristika anomálie oka kolií (CEA)	7
3.2. Symptomy genetické oční vady CEA.....	8
3.2.1. Choroidální hypoplazie (CH) a chorioretinální hypoplazie (CRH).....	8
3.2.2. Kolobom disku zrakového nervu	8
3.2.3. Ablace sítnice a nitrooční krvácení.....	9
3.3. Formy genetické oční vady CEA	9
3.4. Frekvence výskytu genetické oční vady CEA.....	11
3.5. Dědičnost anomálie oka kolií	15
3.6. Možnosti diagnostiky CEA	17
3.6.1. Oftalmologické vyšetření.....	18
3.6.2. Genetický test DNA.....	18
4. Materiál a metodika	20
4.1. Sledovaná skupina psů	20
4.2. Prostředí specializovaného veterinárního pracoviště	20
4.3. Testování psů na genetickou oční vadu CEA pomocí oftalmologického vyšetření	21
4.4. Veterinární osvědčení.....	21
4.5. Statistické výpočty	22
4.6. Sledované závislosti	22
5. Výsledky	23
5.1. Složení kontrolované skupiny psů.....	22
5.2. Četnosti výskytu pozitivních nálezů u sledované skupiny psů.....	23
5.3. Statistické vyhodnocení relativních četností výskytu CEA.....	24
5.4. Výsledky statistických testů.....	26
6. Diskuse	37
7. Závěr	41
8. Přehled použité literatury	43

1. Úvod

Anomálie oka kolíí zahrnuje komplex symptomů specifické oční vady postihující dlouhosrsté a krátkosrsté kolie i všechna jim příbuzná plemena. Následkem této genetické choroby je určitá část populace psů postižena postupnou ztrátou zraku, která ve většině případů nebývá ve finální fázi úplná, ale vede k snížení kvality života a vyřazení jedince z kynologických aktivit. Vzhledem k narůstajícímu výskytu v celosvětovém měřítku dochází v posledních letech zároveň k pokroku v diagnostice i v prevenci této choroby prostřednictvím oftalmologických vyšetření i pomocí genetických testů DNA.

Diplomová práce se zabývá testováním psů na oční vadu CEA v rámci chovu kolíí a příbuzných plemen v České republice a poskytuje přehled o možnostech diagnostiky. Znalost problematiky genetických očních chorob u chovatelské veřejnosti a důsledný program selekce před zařazením do chovu je jedinou možnou cestou k vyřešení tohoto zdravotního handicapu, který postihuje skupinu plemen jejichž chov má v ČR prokazatelně rostoucí tendenci.

2. Cíl práce

Cílem práce je vyhodnocení výsledků vyšetření očního pozadí na oční vadu CEA u kolií a jim příbuzných plemen v rámci chovu v ČR a následné porovnání s výsledky odborníků podílejících se na celosvětovém výzkumu v oblasti genetických očních vad. Statistické vyhodnocení četností výskytu by mělo přinést poznatky o vlivu negativní selekce na tuto oční vadu postupným vyřazováním nemocných jedinců z chovu.

2.1. Hypotéza

Frekvence výskytu genetické oční vady CEA se v kontrolovaných chovech v průběhu let snižuje.

3. Literární rešerše

3.1. Charakteristika anomálie oka kolií (CEA)

Genetická oční choroba CEA byla poprvé popsána vědcem Magranem v USA v roce 1953, pod názvem Collie Eye Anomaly, jako kongenitální neprogresivní onemocnění, které může postihovat skléru, cévnatku, sítnici i s cévami a disk zrakového nervu. Vyskytuje se u všech typů kolií, šeltií, australských ovčáků a několika dalších plemen. Není vázána na pohlaví ani zbarvení psa. CEA postihuje obě oči rozdílně, pouze cca 6 % případů vede k úplnému oslepnutí (Kotman et al., 2003).

Crispin (2005) obdobně popisuje CEA jako chorobu, která ve většině případů není příčinou závažné zrakové indispozice, ale u některých psů, jichž je méně než 10 % z diagnostikované skupiny, vede k těžkým poruchám vize až k úplnému oslepnutí.

Svoboda et al. (2008) charakterizuje chorobu jako unilaterální či bilaterální „syndrom sklerální ektázie kolií.“

Sanders (1991) označuje tento dědičný defekt na očním pozadí jako „syndrom posteriorní ektázie kolií.“ Jedná se o vadu vyskytující se v širokém rozpětí celosvětové populace psů, která je vědecky důsledně analyzována a její diagnostika probíhá již mnoho let.

Lowe et al. (2003) uvádí, že se jedná o chorobu připomínající fenotypově choroidální hypoplazii u lidí, spojenou s výskytem kraniofaciálních či renálních abnormalit.

Oční vada CEA je ovšem výhradně defektem zrakového aparátu, vyskytuje se v široké variabilitě příznaků a závažnost postižení je u každého nálezu velice různorodá (Chang et al., 2010).

Patogeneze choroby spočívá v poruše mezodermálního vývoje skléry a v abnormální mezodermální diferenciaci zrakového pohárku, které se objevují již kolem 30. dne embryonálního vývoje (Kotman et al., 2003).

3.2. Symptomy genetické oční vady CEA

Gelatt (2007) zahrnuje do komplexního syndromu CEA tyto čtyři hlavní oftalmologické nálezy:

- choroidální hypoplazie (CH) či chorioretinální hypoplazie (CRH)
- kolobom disku zrakového nervu
- částečná nebo úplná ablace (odchlípení) sítnice
- nitrooční krvácení (hyféma).

3.2.1. Choroidální hypoplazie (CH) a chorioretinální hypoplazie (CRH)

Choroidální hypoplazie (CH) je nejvýznamnějším patognomickým oftalmoskopickým symptomem CEA. Nejčastěji je patrná abnormálně vyvinutá chorioidální cévní síť při fokální aplazii nebo hypoplazii tapeta lucida v tapetální části očního pozadí. Pokud je nepigmentována nejen chorioidea, ale i pigmentový list sítnice, jde o chorioretinální hypoplazii (CRH). Slabá chorioidální hypoplazie může být překryta zrajícím fundem, zvláště pak tapetem, a od 7. týdne věku psa nemusí být již znatelná. Tak se může stát, že později vyšetřené zvíře se označí jako zdravé (oční pozadí se jeví jako normální). Proto je nutné u predisponovaných plemen provádět první vyšetření před ukončením 6. týdne věku. Jen tak lze odhalit všechny pozitivní homozygoty a vyřadit je z chovu, a to i přesto, že tato zvířata mohou vidět normálně (Kotman, 2003).

Svoboda et al. (2008) popisuje přítomnost bledých, nepigmentovaných skvrn bilaterálně, často asymetricky lokalizovaných temporálně od optického disku, pigmentace sítnice je snížena i v okolí změn. Diagnostika CH může činit potíže u psů s albinotickým či subalbinotickým očním pozadím, zejména u psů s „merle“ zbarvením z důvodu absence pigmentu očního pozadí.

3.2.2. Kolobom disku zrakového nervu

Převážně se jedná o kolobom unilaterální, bilaterální kolobom se vyskytuje u cca 35 % případů. Kolobom disku může být totální nebo parciální. Druhý typ – kolobom fundu může být lokalizován laterálně od očního disku nebo tak, že oční

disk leží na dně kolobomu. Přes často velmi alarmující změny je zraková schopnost zpravidla snížena jen velmi nepatrně nebo vůbec (Kotman, 2003).

Gionfriddo (2000) uvádí, že diagnostika kolobomu bývá možná u štěňat ve věku 5 – 8 týdnů. Později není možno diagnostikovat díky postupující pigmentaci a starší psi se tedy mohou jevit jako naprosto zdraví a bez oftalmologického nálezu. Kolobom může být přítomen na jednom oku či u obou očí, liší se u různých zvířat svou velikostí i hloubkou.

3.2.3. Ablace sítnice a nitrooční krvácení

Svoboda et al. (2008) popisuje, že nejčastějšími příčinami oslepnutí jsou totální ablace sítnice a nitrooční krváceniny. Ty mohou mít za následek také zvýšený nitrooční tlak.

Crispin (2005) stejně tak uvádí, že důvodem pro závažnější poruchy zraku až do úplného oslepnutí jsou nitrooční krváceniny a totální ablace sítnice. Tyto komplikace však nebývají příliš časté.

Kotman (2003) popisuje počátek ablace sítnice nejprve v okolí kolobomu jako parciální ablaci, která v této fázi ovlivňuje zrak pouze nepatrně, v průběhu několika měsíců ovšem dochází k rozvinutí totální ablace a k oslepnutí. Odtržená sítnice klesá směrem dolů a visí na disku. V důsledku ruptury cév nebo zvýšené propustnosti cév fundu dochází ke krvácení do sklivce a do přední oční komory, kde se nachází trvale nesrážlivá krev. A právě tento stav může vést až k rozvinutí sekundárního glaukomu. Terapie CEA není možná, predisponovaná plemena je nutné systematicky vyšetřovat a pozitivní jedince nepoužívat v chovu.

3.3. Formy genetické oční vady CEA

Lehká forma oční vady CEA je častým problémem u kolinek chovaných v USA. Lze ji snadno diagnostikovat oftalmologickým vyšetřením ve věku štěňat 5 – 8 týdnů. Projevuje se formou lokalizované „léze“ laterálně od optického disku, kde je zároveň redukovaný pigment a tak je možno prosvítit cévní síť pod ním. V některých případech je viditelná i skléra. Ve věku kolem 3. měsíců je sítnice

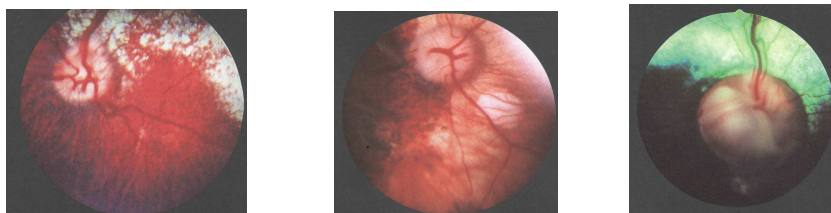
zabarvena jako u dospělých zvířat a obsahuje standardní pigment. V této době již nelze oftalmologické vyšetření považovat za objektivní, protože příznaky CEA nebývají patrné ani u pozitivních štěňat. U psů postižených lehkou formou CEA dochází v dospělosti pouze k zeslabení cévnatky, ale nejedná se o viditelné snížení zrakové schopnosti. Tito psi mohou ovšem přivést na svět potomky postižené těžkou formou této genetické oční choroby. U kolíí a plemen psů kde dochází ke šlechtění na zbarvení „merle“ se může vyskytovat specifická anomálie oka psů „merle“ zbarvení, která je svými příznaky do určité míry podobná chorioidální hypoplazii. Obě vady jsou dědičné, diagnostikované jako anomálie na očním pozadí, ale diferencují se prokazatelnými rozdíly (Acland, 2005).

Těžká forma oční vady CEA postihuje přibližně 25 % psů z celkové skupiny diagnostikovaných případů a vede často k závažnému postižení zraku i když pravděpodobnost úplného oslepnutí je poměrně nízká. Kolobomy viditelné v blízkosti optického nervu mohou vézt k sekundární komplikaci jakou je parciální nebo totální ablace sítnice a/nebo prorůstání abnormální cévní sítě způsobující v některých případech nitrooční krvácení. Tato nejtěžší forma CEA/CH bývá diagnostikována u 5 – 10 % případů a projeví se přibližně ve věku dvou let (Acland, 2005).

Obrázek č.1: Oční pozadí zdravého psa



Obrázek č. 2: Oční pozadí kolíí s diagnostikovanou vadou CEA



lehká forma CEA hemoragie v oblasti optické papily kolobom

(Svoboda et al., 2008)

3.4. Frekvence výskytu genetické oční vady CEA

Gellat (2000) uvádí, že anomálií oka kolií bylo v roce 1969 postiženo mezi 75 – 97 % kolií v USA, 64 % v Anglii, více než 50 % ve Švédsku a 41 % v Norsku. U šeltií byl výskyt choroby také vysoký, ale v jednotlivých zemích značně rozdílný. U australských ovčáků a border kolií bylo procento výskytu poměrně nízké.

Gionfriddo (2000) popisuje studii prováděnou v USA v letech 1991 – 1999, do které bylo zahrnuto 19 592 kolií a z nich 15 000 bylo vyhodnoceno jako CEA pozitivní (tj. 77 % psů). U ostatních plemen bylo procento pozitivních psů nižší.

Svoboda et al., (2008) označuje prevalenci u kolií a šeltií souhrnně jako extrémně vysokou - okolo 75 %. U australských ovčáků a border kolií popisuje také nízký výskyt. Mezi další plemena u nichž byla vada diagnostikována patří Nova Scotia Duck Tolling retriever, vipet a Lancashire Heeler.

Walser-Reinhardt et al. (2009) publikuje svou retrospektivní studii provedenou ve Švýcarsku, do které zahrnuj výsledky 3527 oftalmologických vyšetření od šesti plemen psů. Během let 1999 – 2007 byl sledován výskyt pozitivních nálezů chorioretinální hypoplazie (CRH), chorioidální hypoplazie a kolobomu a samostatného kolobomu. V případě krátkosrstých kolií bylo nálezů CRH 8,9 %, u dlouhosrstých se jednalo o 36,9 %. Z toho navíc CRH a kolobom dohromady byly diagnostikovány u 2,8 % a kolobom samostatně u 0,38 % psů. U skupiny šeltií byla CRH objevena u 13,1 %, CRH a kolobom u 1,8 % a samostatný kolobom u 0,2 % psů. Ve skupině border kolií bylo diagnostikováno pouze 0,7 % CRH. V rámci australských ovčáků byl pouze jeden pozitivní nález – procenticky zanedbatelný a u Nova Scotia Duck Tolling retriever nebyl zaznamenán absolutně žádný pozitivní nález. Statisticky prokazatelné rozdíly nebyly mezi pohlavím psů ani v závislosti na zbarvení srsti.

V rámci finského Kennel klubu bylo prověřeno 18 146 psů sedmnácti různých plemen. Oční vada CEA byla vyhodnocena jako jedna ze dvou nejčastěji se vyskytujících očních vad a to zcela prokazatelně v nejvyšší frekvenci u dlouhosrstých kolií. Během studie, která probíhala v letech 1988 – 1997 se prevalence CEA ve Finsku výrazně zvýšila. Důvodem může být i fakt, že dosažené vědecké poznatky umožňují diagnostikovat adekvátně i lehkou formu CEA. Psi,

postižení touto formou, byli v osmdesátých letech často chybně vyhodnocováni jako zdraví (Leppänen, Saloniemi, 1998).

V letech 1989 – 1997 bylo ve Švédsku vyšetřeno 8204 dlouhosrstých kolií, tj. 76 % celkové populace čistokrevných kolií registrovaných ve švédském Kennel klubu. Všechna štěňata byla testována před dovršením 10 týdnů věku. Selektce byla zaměřena na vyřazení pozitivních jedinců, kde byl diagnostikován kolobom.

U pozitivních nálezů chorioretinální dysplazie (CRD) nebyla štěňata z chovu vyřazována. Prevalence CRD se prokazatelně zvýšila a to z 54,2 % na 68,1 % ($P < 0.001$) v průběhu tohoto testu mezi lety 1989 a 1997, zatímco prevalence kolobomu zůstala na zhruba stejné úrovni z 8,3 % na 8,5 % ($P = 0.4$). Tyto výsledky však nelze považovat za směrodatné v rámci obecného testování pro celý komplex oční vady CEA (Wallin-Håkanson, et al., 2000).

Wallin-Håkanson et al. (2000) ve své následující práci vztahující se ke stejné studii na 8204 koliích švédského Kennel klubu rozebírá podrobnější vyhodnocení.

U rodičů, z nichž jeden nebo oba měli diagnostikovaný kolobom bylo pozitivních potomků v jednom vrhu průměrně 3,8 zatímco v případě rodičů, kdy u obou byla zjištěna chorioretinální hypoplazie (CRD) se v průměru narodilo 5,2 pozitivních potomků v jednom vrhu. V případech, kdy byly oba rodiče po vyšetření uznáni zdraví, se ovšem v průměru narodilo 5,0 potomků s diagnostikovanou chorioretinální hypoplazií. Prevalence CRD u štěňat po obou zdravých rodičích však činila 43 % oproti očekávanému výsledku 25 %. U rodičů, kteří byly oba vyhodnoceni CRD pozitivní, je automaticky očekáván výsledek 100 % pozitivních potomků. Diagnostikováno bylo v této studii však pouze 85 % nemocných štěňat. Takovéto výsledky nejsou odpovídající pro jednoduše autozomálně recesivní dědičnost, lze však uvažovat na dědičnost polygenní.

Bjerkas (1991) pojednává o výsledcích skupiny 741 kolií vyšetřených na CEA v Norsku. Z této skupiny bylo 40,8 % kolií CEA pozitivních s nejčastějším nálezem CRD. Kolobom optického disku byl diagnostikován u 7,7 % případů, zatímco 3,5 % případů vykazovalo nejzávažnější formu choroby – ablacii sítnice a nitrooční krvácení. Vliv pohlaví ani zbarvení srsti kolií opět nebyl prokázán. Psi byli následně rozděleni do dvou skupin – dle věku při prvním vyšetření. Ve skupině věkové kategorie při prvním vyšetření 7 týdnů – 3 měsíce bylo diagnostikováno 48,9 % CEA u druhé skupiny psů starších 3 měsíců při prvním vyšetření se jednalo o 25,6 % CEA pozitivních. U všech štěňat s diagnostikovaným kolobomem byly zároveň

zjištěny příznaky CRD, zatímco u dospělých psů mělo 11 z 66 diagnostikovaných kolobom bez CRD. 22 kolíí vyšetřených ve štěněcím věku s nálezem lehké CRD bylo v dospělosti znovu vyšetřeno. 15 z nich nevykazovalo žádné negativní změny na očním pozadí, 7 kolíí bylo vyhodnoceno jako CRD pozitivní.

Beuing, Erhardt (2002) popisují studii provedenou v Německu, při které bylo oftalmologicky vyšetřeno 1612 šeltíí a 2514 kolíí za účelem redukce genetických očních chorob v rámci německého Kennel klubu. Zde bylo 19,7 % šeltíí pozitivních. U kolíí se jednalo o 22,6 % pozitivních jedinců. Vliv pohlaví ani zbarvení srsti psů na výskyt genetické oční vady nebyl prokázán. V průběhu deseti let testování nebyla zaznamenána rostoucí ani klesající tendence výskytu choroby. Prokazatelné rozdíly v diagnostice byly prokázány v korelaci s věkem psů. Především kolie vyšetřené do 10. týdne věku vykazaly vyšší procento výskytu choroby než jedinci starší deseti týdnů. Jednoznačně výrazné rozdíly jsou patrné v závislosti na úrovni veterinární praxe. Nejnižší procento výskytu bylo zaznamenáno u vyšetření z běžných veterinárních ambulancí, počínaje na 3,5 % a nejvyšší výskyt byl samozřejmě pozorován na specializovaných pracovištích - kde vyšetření provádí veterinární oftalmolog – 34,7 %.

Bedford (1982) již ve své studii z 80. let popisuje statistické vyhodnocení provedené na 2500 psech, jejíž výsledky prokázaly 64 % pozitivních nálezů u kolíí zařazených do studie. U šeltíí tvořila skupina pozitivních jedinců dokonce 72 %. Právě v této době byla potvrzena hypotéza založená na prvních výzkumech v USA, při kterých bylo prokázáno, že v případě CEA jde jednoznačně o autozomálně recesivně dědičnou chorobu.

Spadiut, Nell (1999) přichází s první diagnózou CEA u border kolie v Rakousku. U sedmi měsíční border kolie s viditelnou poruchou zraku byla diagnostikována CEA na obou očích. Pravé oko bylo mikroftalmické, s nálezem subepiteliální korneální dysplazie, tmavého zbarvení duhovky oproti levému oku a ablaci sítnice. Zde bylo viditelné i krvácení v přední oční komoře. V levém oku byl zaznamenán nález chorioidální hypoplazie, kolobomu zrakového nervu a odchlípení sítnice ve fokální rovině. Tento první případ CEA u border kolie zvýšil pozornost rakouských chovatelů border kolíí k problematice genetických očních vad.

Bedford (1998) provedl diagnostiku oční vady CEA u plemene Lancashire Heeler. Výzkum oční choroby u tohoto plemene byl dokončen v roce 1996 a prokázal 13,7 % pozitivních nálezů. Klinické (oftalmologické) nálezy ve spojení

s analýzou rodokmenů prokázaly, že lze uvažovat o jednoznačně pleiomorfne mendelisticky autozomálně recesivně dědičné chorobě. Alternativní hypotézy spekulují o tom, že existují závažné „léze“ diagnostikované jako CEA, které ovšem vznikly jako vrozená vada očí nesouvisející s komplexem CEA a mají svůj vlastní způsob dědičnosti. Každopádně, kombinace již dříve zmiňovaných tří defektů – bilaterální chorioidální hypoplazie, papilární a peripapilární kolobom plus neuroretinální ablace potvrzuje, že tyto tři léze jsou jednoznačně individuální součástí jedné choroby. Objev oční vady u plemene, které není příbuzné koliím ovšem vyžaduje stanovení řádného pojmenování choroby a z toho důvodu byl navržen pojem „kongenitální posteriorní segmentativní anomálie.“

Acland (2005) uvádí, že oční vadou CEA jsou v nejvyšší míře postiženy kolie chované v USA a poté dlouhosrsté a krátkosrsté kolie v ostatních zemích. Následuje šeltie, border kolie, australský ovčák a Lancaster Heeler.

Následující tabulka zobrazuje výsledky testování psů na CEA ve Spojených státech již v 90. letech.

Tabulka č. 1. Frekvence výskytu genetické oční vady CEA v USA v letech 1991 - 1999

	choroidální hypoplazie	kolobom	ablace sítnice
kolie krátkosrstá/ dlouhosrstá	66,7 %	8,75 %	1,88 %
border kolie	2,12 %	0,57 %	0,06 %
šeltie	0,39 %	0,79 %	0,05 %
australský ovčák	0,22 %	0,27 %	0,13 %

(Acland, 2005)

Sharp (2001) poukazuje na problematiku CEA u plemene australský ovčák. CEA u australských ovčáků v současné době nepředstavuje nikterak velkou hrozbu, vzhledem k velmi nízkému počtu pozitivních nálezů. Tento fakt ovšem vede k tomu, že chovatelé stále ještě nepovažují prevenci za opodstatněnou a to jak v Austrálii, kde se toto plemeno těší velké popularitě, tak i v USA a v Evropě, kde probíhá intenzivnější veterinární výzkum.

3.5. Dědičnost anomálie oka kolíí

Z hlediska dědičnosti byl u oční vady CEA prokázán autozomálně recesivní přenos z rodičů na potomky (Kotman et al., 2003). Vlastnosti recesivně dědičné jsou z pohledu chovatele velmi nepříjemné a jejich odstranění z chovu je práce dlouhodobá a velmi složitá. Projevit se mohou i s odstupem několika generací (Dostál, 1995).

Z psích chorob, u nichž je znám způsob dědičnosti, je více než 70 % autozomálně recesivních. Zastoupení autozomálně dominantních chorob je nižší z důvodu snadné eliminace v populaci (Horák, 2005).

Oční vada CEA se vyskytuje u skupiny plemen patřících do 1. skupiny klasifikace FCE – tedy do skupiny ovčáckých a pasteveckých psů. Vzhledem k faktu, že se jedná o psy pracovní, kteří jsou využíváni k reálnému pasteveckému procesu i k zájmovým kynologickým aktivitám a pro své charakterové vlohy se těší velké oblibě, byl v minulosti např. u border kolíí realizován inbreeding – program příbuzenské plemenitby - za účelem udržení jisté homogenity plemene. Rizikem tohoto postupu je právě zvýšení homozygotnosti v populaci plemene a s ním spojené negativní recesivní exprese genu - jinak nazývané inbrední deprese (Cavalchini et al. 2007).

Tabulka č. 2. Předpokládané výsledky pro CEA při páření jedinců s různými kombinacemi alel

matka/ otec	R/R (zdravá) homozygot dominantní	R/r (zdravá, přenašečka) heterozygot	r/r (nemocná) homozygot recesivní
R/R (zdravý) homozygot dominantní	100 % zdraví potomci	50 % zdraví potomci 50 % přenašeči	100 % přenašeči
R/r (zdravý, přenašeč) heterozygot	50 % zdraví potomci 50 % přenašeči	25 % nemocní / 25 % zdraví 50 % přenašeči	50 % nemocní potomci 50 % přenašeči
r/r (nemocný) homozygot recesivní	100 % přenašeči	50 % nemocní potomci 50 % přenašeči	100 % nemocní potomci

(Grandjean et al., 2010)

Pokročilá znalost geneze choroby v rámci určitého chovu je nezbytná k identifikaci a řádné prevenci v chovatelských postupech. K vyřazení nemocných jedinců z chovu lze využít liniové plemenitby. Úspěch v každé generaci však bude nízký – pouze několik málo procent, vzhledem k tomu, že všichni jedinci při oftalmologickém vyšetření uznání jako zdraví, ale zároveň skrytí přenašeči choroby, v chovu zůstanou. Následující tabulka vyjadřuje, jak vysoké procento přenašečů lze očekávat v populaci psů zařazených do chovu po oftalmologickém vyšetření, prostřednictvím kterého lze selektovat pouze nemocné jedince (Grandjean et al., 2010).

Tabulka č. 3. Frekvence heterozygotů při konkrétním výskytu CEA v populaci

frekvence alel r/r homozygot recesivní	frekvence alel R/r heterozygot	frekvence alel R/R homozygot dominantní
0,10 %	6 %	94 %
1 %	18 %	81 %
10 %	44 %	46 %

(Grandjean et al., 2010)

Lowe et al. (2003) popisuje objev primárního lokusu pro CEA v regionu 3,9 cM na 37 chromozomu u psů v rámci sestavení genetické mapy. Jedná se o oblast korespondující s oblastí lidského chromozomu 2q35. Tento výsledek poukazuje na přítomnost vývojového regulačního genu důležitého v procesu oční embryogeneze, který může být důsledkem i dalších poruch vaskularizace.

Suriyaphol, (2011) označuje mutaci CEA jako – „*nonhomologous and joining factor 1 = gen NHEJ1*“ - na 37. chromozomu u psů.

Parker et al. (2007) ve své práci provedené na 132 plemenech psů charakterizuje genetickou podstatu oční vady CEA jako homozygotní delecii 7,8 kb na 4 intronu genu NHEJ 1. Tato delece intronů zasahuje velice uzavřenou oblast, kterou vážou vývojově důležité proteiny. Práce prokázala, že primárně mutace CEA vzniká jako porucha projevu genu v jednoduché dědičnosti ovčáckých plemen a zároveň zvýraznila hodnotu komparativní populační analýzy důležité v procesu zušlechťování chovu těchto psů.

Chen et al. (2009) přichází se studií zabývajících se variabilitou struktury DNA. Pes je ideální savec pro výzkum této variability protože příroda vytvořila stovky plemen, která se diferencovala v projevech chování i v morfologické stavbě těla. Každé plemeno nese jiné predispozice pro konkrétní genetické choroby. Již byla vytvořena první genetická mapa, ve které jsou zaneseny právě tyto variability. Jejich rozsah a také některé geny pro určitá onemocnění jsou podobné s geny myši i s těmi lidskými. V rámci studie bylo identifikováno mnoho genů specifických pro určitá plemena psů, což vede k jistému vytvoření plemenných tříd a také k poznatku nesourodosti mezi sousedícími sekvencemi DNA. Jak rychle bude postupovat mapování celého psího genomu, a s ním související program prevence genetických chorob, je nyní předmětem diskusí světových odborníků.

Přínos výzkumu dědičných onemocnění u jednotlivých druhů organismů je vzájemný, neboť poznatky získané u jednoho druhu ve velké míře přispívají k rozšíření znalostí u druhu dalšího. Pokrok v diagnostice lidských chorob je obvykle následován identifikací jejich homologů u zvířat. A právě jejich studium poté přináší neocenitelné informace o patogenezi či možnostech léčby pro humánní medicínu (Horák, 2005).

3.6. Možnosti diagnostiky CEA

V současné době existuje metodicky rozpracovaný a u řady plemen již v praxi aplikovaný diagnostický a zároveň ozdravný program dědičných očních vad. Jde o celou škálu posloupných vyšetření, která hodnotí stav rohovky a duhovky, u některých plemen tlak nitrooční tekutiny, či polohu a transparenční čočky i stav sklivce. Nejnáročnější praktikou je důkladné vyšetření očního pozadí, tedy sítnice a optického disku. Právě toto oftalmologické vyšetření slouží k odhalení významných genetických očních vad, mezi které patří právě Anomálie oka kolí – genetická oční choroba postihující především kolie a příbuzná plemena. Problematiku plemenné predispozice sleduje světová organizace CERF (Canine Eye Registry Foundation), která od roku 1974 mapuje výskyt geneticky fixovaných očních onemocnění u jednotlivých plemen a jejich nástup v závislosti na věku jedince (Beránek, 2001).

3.6.1. Oftalmologické vyšetření

Management genetických očních chorob u psů si žádá urgentní potřebu specializovaného vzdělávání veterinárních lékařů – oftalmologů, kteří se následně prokazují kvalifikací v souladu s příslušnou organizací založenou za účelem řešení problematiky očních chorob u psů. V německy mluvících zemích je to organizace „AKVO“ – „Arbeitskreis für Veterinarophthalmologie.“ Zde registrovaní specialisté jsou schopni provádět vyšetření na genetické oční choroby pomocí technik mezinárodně uznávaných a výsledky těchto vyšetření jsou akceptovány dle mezinárodních standardů. Výrazná pozornost je věnována právě genetickým vadám na očním pozadí – PRA, CEA. Dále jsou pozorně sledovány opacity a dislokace oční čočky či primární glaukom. Důležité je dodržení pravidel týkajících se věku psů při prvním vyšetření v závislosti na primárních symptomech na očním pozadí. V případě CEA či katarakty musí vyšetření proběhnout nejlépe v 5. týdnu věku štěňat, zatímco u PRA nemusí být příznaky patrné před 5. rokem věku (Walde, Neumann, 1991).

V České republice je oftalmologické vyšetření na oční vadu CEA prováděno u štěňat ve věku 6 – 8 týdnů. Chovatelé mají možnost zvolit jednoho z malé skupiny certifikovaných veterinárních oftalmologů. Běžnou praxí je vyšetření celého vrhu ještě před odstavem. Tím je zajištěno, že nový majitel převezme štěně spolu s certifikátem (osvědčením o vyšetření na genetické oční choroby) a má tak naprosto jasnou informaci o výsledku vyšetření štěněte na všech 16 genetických očních vad (Lenská, 2011).

3.6.2. Genetický test DNA

Možnost testování psů na CEA prostřednictvím analýzy DNA poskytuje v Evropě několik specializovaných laboratoří. K vyšetření je třeba předepsaným způsobem odebraný vzorek krve (krevního séra), který odebere informovaný veterinární lékař na běžné veterinární klinice. Při dodržení instrukcí k odběru vzorku a transportu je zajištěn zdárný průběh celého procesu a během několika týdnů zná chovatel (majitel) přesný genotyp svého psa. Laboratoř Optigen stanovuje výsledky testu na základě izolace genetické mutace na 37. chromozomu a s naprostou určitostí detekuje všechny tři možnosti genotypu – nemocné (homozygoty recesivní),

přenašeče (heterozygoty) a zdravé psy (homozygoty dominantní). Výsledek testu je platný po celou dobu života psa a je možné ho provést v jakémkoliv věku (anon, 2010).

Dostál et al. (2010) popisuje metodu genetického testu z DNA psů, která je v současné době dostupná a otestovaná i v České republice. Dědičnost oční vady CEA je již důkladně prozkoumaná a je tedy možné detekovat homozygotní delecí 7,8 kb na NHEJ 1 genu. Genetickému testu bylo podrobena 379 psů následujících plemen: dlouhosrstá a krátkosrstá kolie, šeltie, border kolie, australský ovčák, Nova Scotia Duck Tolling Retriever. Všichni psi pocházeli od českých chovatelů. Jednoduchá metoda PCR využívá tzv. Piko(TM) termocykler, který pracuje přímo se získanými vzorky krve a předchází izolaci DNA z těchto vzorků je tedy eliminována. Tato časově úsporná metoda vykazuje excelentní výsledky. Zjištěné frekvence recesivních alel pro oční vadu CEA byly následující: australský ovčák 0,045, border kolie, 0,194, dlouhosrstá kolie, 0,797, krátkosrstá kolie, 0,367, šeltie 0,429 a NSDTR 0,244. Využití metody PCR pro testování na CEA v rámci České republiky je v současné době možné, ale chovatelskou veřejností stále ještě v malé míře využíváné.

4. Materiál a metodika

4.1. Sledovaná skupina psů

V letech 2005 – 2010 bylo na specializovaných veterinárních pracovištích v ČR vyšetřeno na genetickou oční vadu CEA celkem 1769 dlouhosrstých i krátkosrstých kolií, šeltií, border kolií a australských ovčáků. Pouze několik jedinců bylo podrobena genetickému testu DNA. Chovatelské kluby výše uvedených plemen psů se v ČR stále poměrně liší ve stanovených podmínkách k udělení chovnosti zvířat. Podrobení psa genetickému testu DNA je ve své podstatě dobrovolné a záleží na každém chovateli, pro který způsob vyšetření na genetickou oční vadu CEA se rozhodne.

Statistický soubor dat, získaný pro účely diplomové práce, se skládal ze 155 dlouhosrstých kolií, 115 krátkosrstých kolií, 511 šeltií, 744 border kolií a 244 australských ovčáků. Všichni psi, zařazení do studie, byli vyšetřeni MVDr. Lenskou nebo MVDr. Beránkem pomocí oftalmologického vyšetření.

4.2. Prostředí specializovaného veterinárního pracoviště

Oftalmologické vyšetření na oční pozadí podložené certifikovaným výsledkem je schopen provádět pouze adekvátně vzdělaný veterinární oftalmolog vlastníci oficiální oprávnění k této činnosti na základě složené zkoušky, jejíž pravidla sestavuje mezinárodní organizace. V České republice je toto oprávnění podložené výsledkem zkoušky před odbornou mezinárodní komisí a následně uděleno Komorou veterinárních lékařů. Vyšetření, prováděná MVDr. Barbarou Lenskou na veterinární klinice Vetcentrum Duchek s.r.o., probíhají ve speciálně zařízené ordinaci s možností dostatečného zatemnění, které je pro zdárný průběh oftalmoskopie očního pozadí nezbytné. V ordinaci je stabilně umístěna potřebná přístrojová technika a zajištěno optimální zázemí pro návštěvy chovatelů s celými vrhy štěňat.

4.3. Testování psů na genetickou oční vadu CEA pomocí oftalmologického vyšetření

Vyšetření očního pozadí na tuto specifickou oční vadu se v České republice provádí u štěňat ve věku 6 – 8 týdnů. Objektivita výsledku ve vyšším věku nemůže být zajištěna vzhledem k postupující pigmentaci na očním pozadí, která znemožní řádné posouzení (Kotman, 2003).

Štěňata vyšetřovaná MVDr. Lenskou podstupují tzv. „přímou oftalmoskopii“ očního pozadí, před kterou je nutné dosažení mydriázy – rozšíření oční zornice. K tomuto účelu je používáno krátkodobě působící mydriaticum – oční kapky Unitropic 1% (Tropicamidum 10 mg/ml). Přibližně 15 minut po aplikaci mydriatika do obou očí je možné zahájit oftalmologické vyšetření. V případě nedostatečné mydriázy je nutné aplikaci opakovat.

Přístrojová technika zde používaná k tomuto vyšetření se sestává ze štěrbinové lampy Kowa – Slit Lamp SL 15 a funduskamery Kowa Genesis.

Obrázek č. 4: Štěrbínová lampa SL 15 (vlevo) a fundus kamera (vpravo)



(Duchková, 2009)

4.4. Veterinární osvědčení

Na základě výsledku oftalmologického vyšetření vystaví veterinární oftalmolog pro každé štěně certifikát (osvědčení) o vyšetření na genetické oční choroby. Všechna štěňata, vyhodnocena jako negativní (prostá všech genetických

očních vad) jsou s tímto certifikátem předána novému majiteli s předpokladem zařazení do chovu.

4.5. Statistické výpočty

Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí statistického programu MATLAB verze 2010b.

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

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

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

(Řezanková, 2007).

Dále byl statistický soubor dat vyhodnocen pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) a průběh sledovaných závislostí vyjádřen prostřednictvím lineární regrese. Statistická nenulovost koeficientu regrese byla ověřena t-testem.

4.6. Sledované závislosti

Pro účely statistického vyhodnocení byli psi rozděleni dle plemenné příslušnosti a dle pohlaví. Sledovány byly absolutní a relativní četnosti výskytu onemocnění v rámci každého plemene během celého období od zahájení oftalmologických vyšetření v roce 2005 do 31.12.2010 (tj. 6 let).

Pro znázornění průběhu relativních četností bylo použito grafické vyjádření výstupu lineární regrese. Vyhodnoceny byly relativní četnosti výskytu genetické oční vady v rámci celé sledované skupiny, v závislosti na pohlaví psů a nakonec individuálně u každého kontrolovaného plemene.

5. Výsledky

5.1. Struktura kontrolované skupiny psů

Do studie bylo zařazeno 1769 psů pěti plemen, u kterých je Anomálie oka kolíí specifickou genetickou oční vadou, pravidelně testovanou u štěňat ve věku 6 – 8 týdnů. Výsledky oftalmologických vyšetření byly zpracovány pomocí kontingenčních tabulek.

Přehled všech zkratk použitých při statistickém vyhodnocení:

dlouhosrstá kolie	CR
krátkosrstá kolie	CS
šeltie	SH
border kolie	BC
australský ovčák	AS
fena	F
pes	M

Počet vyšetření u konkrétních plemen včetně zastoupení obou pohlaví v průběhu let 2005 – 2010 podrobně znázorňuje tabulka č. 4.

Tabulka č. 4: Podrobné rozložení sledované skupiny psů

ROK	CELKEM	F	M	BC	CR	CS	AS	SH
2005	100	57	43	42	20	0	12	26
2006	173	91	82	71	14	8	14	66
2007	192	94	98	118	7	0	37	30
2008	517	274	243	213	47	22	104	131
2009	444	260	184	176	42	46	48	132
2010	343	187	156	124	25	39	29	126
Σ	1769	963	806	744	155	115	244	511

(vlastní výpočty, 2012)

Na základě výsledků vyšetření této skupiny psů, byla provedena statistická analýza a vyhodnocení absolutních a relativních četností výskytu genetické oční vady

CEA, v závislosti na plemenné příslušnosti, v průběhu let od začátku testování v roce 2005 až do konce roku 2010. Zohledněny byly také četnosti výskytu choroby dle pohlaví psů.

5.2. Absolutní četnosti výskytu CEA u kontrolované skupiny psů

Tabulka č. 5. Absolutní četnosti výskytu genetické oční vady CEA

ROK	CELKEM	F	M	BC	CR	CS	AS	SH
2005	11	5	6	1	6	0	0	4
2006	18	10	8	2	6	3	0	7
2007	9	4	5	3	5	0	0	1
2008	57	30	27	2	25	0	0	30
2009	34	23	11	0	9	1	0	24
2010	25	9	16	0	3	0	0	22
Σ	154	81	73	8	54	4	0	88

(vlastní výpočty, 2012)

Z výše uvedených dat vyplývá, že v celé sledované skupině bylo zaznamenáno celkem 154 pozitivních nálezů. Nejvyšší počet byl zastoupen u plemene šeltie a následně u dlouhosrsté kolie. Pouze několik nálezů bylo zjištěno u border kolií a krátkosrstých kolií. Mezi australskými ovčáky nebyl žádný pozitivní nález.

Absolutní četnosti výskytu CEA v závislosti na pohlaví psů znázorňuje následující tabulka č. 6. a tabulka č. 7.

Tabulka č. 6. Absolutní četnosti výskytu genetické oční vady CEA u fen

ROK	BC	CR	CS	AS	SH
2005	0	2	0	0	3
2006	0	2	3	0	5
2007	0	3	0	0	1
2008	2	13	0	0	15
2009	0	6	1	0	16
2010	0	0	0	0	9
Σ	2	26	4	0	49

(vlastní výpočty, 2012)

Tabulka č. 7. : Absolutní četnosti výskytu genetické oční vady CEA u psů

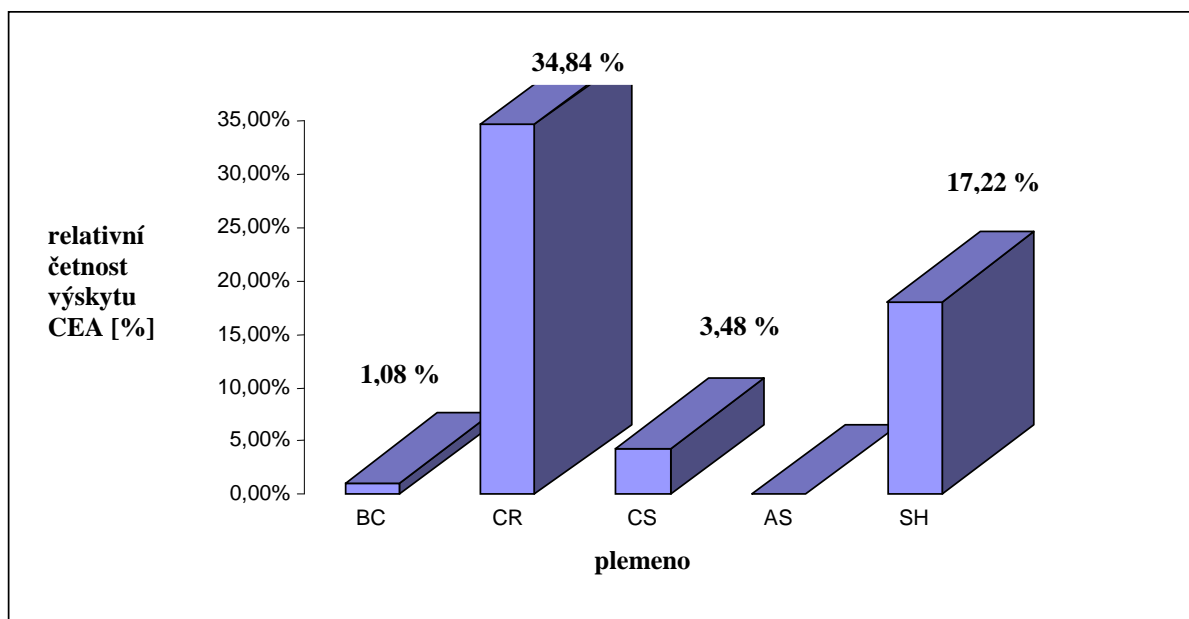
ROK	BC	CR	CS	AS	SH
2005	1	4	0	0	1
2006	2	4	0	0	2
2007	3	2	0	0	0
2008	0	12	0	0	15
2009	0	3	0	0	8
2010	0	3	0	0	13
Σ	6	28	0	0	39

(vlastní výpočty, 2012)

V průběhu šesti sledovaných let bylo vyšetřeno 963 fen a 806 psů. Počet pozitivních nálezů byl u fen stanoven na 81 a u psů na 73 z celé skupiny zvířat.

Procentické vyjádření relativních četností výskytu anomálie oka kolií za celé období u sledované skupiny psů v závislosti na plemenné příslušnosti znázorňuje následující graf 1.

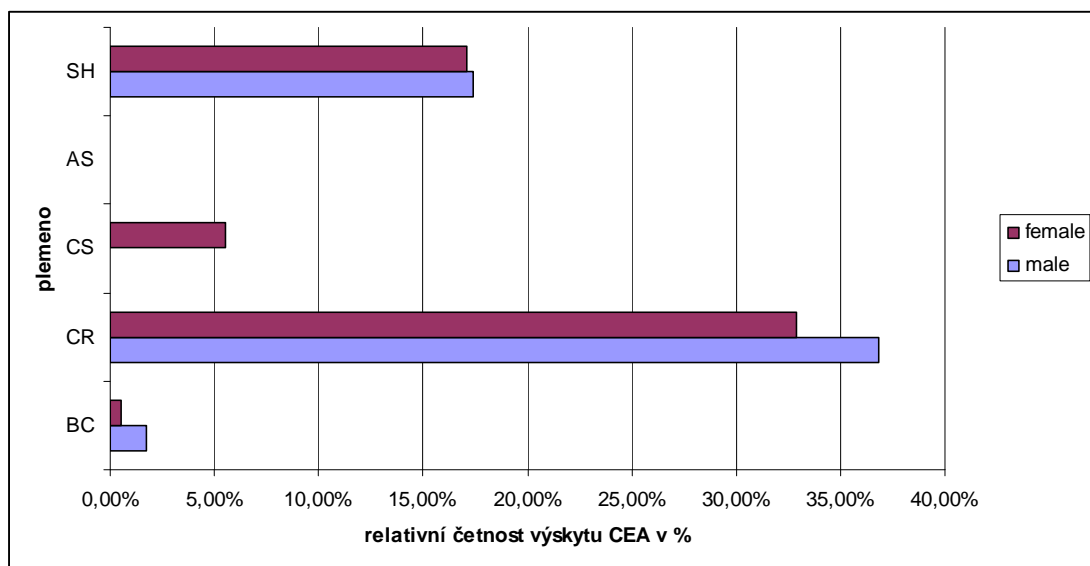
Graf 1. Relativní četnosti výskytu genetické oční vady CEA [v %] dle plemenné příslušnosti za celé sledované období



Graf 1. vypovídá o míře zatížení jednotlivých plemen psů genetickou oční vadou CEA. V nejvyšší míře jsou chorobou postiženy dlouhosrsté kolie. Výrazný výskyt je zaznamenán následně u šeltií oproti krátkosrstým koliím, kde je v průběhu let zachycena velmi nízká relativní četnost nálezů. U border kolií je choroba zaznamenána ojediněle a mezi australskými ovčáky je výskyt CEA v současné době nulový.

Relativní četnosti výskytu genetické oční vady CEA v [%] u jednotlivých plemen psů v závislosti na pohlaví znázorňuje graf 2.

Graf 2. Relativní četnosti genetické oční vady CEA dle pohlaví [%]



Z grafu 2. je zřejmé, že v případě plemen nejvíce zatížených genetickou oční vadou CEA – dlouhosrstých kolií a šeltií - je relativní četnost pozitivních nálezů vyšší u psů než u fen. Rozdíl je však statisticky zanedbatelný. Border kolie jsou plemenem s nízkým zatížením genetickou vadou, ale i zde bylo více pozitivních nálezů u psů. Naopak u plemene krátkosrstá kolie byla CEA diagnostikována pouze u několika fen.

5.3. Statistické vyhodnocení relativních četností výskytu genetické oční vady CEA

Tabulka č. 8. Relativní četnosti výskytu genetické oční vady CEA v průběhu let – dle plemenné příslušnosti a pohlaví psů

ROK	CELKEM	F	M	BC	CR	CS	AS	SH
2005	0,11	0,088	0,1395	0,024	0,3	0	0	0,301
2006	0,104	0,1099	0,098	0,023	0,423	0,375	0	0,203
2007	0,047	0,043	0,051	0,025	0,714	0	0	0,077
2008	0,110	0,109	0,111	0,009	0,532	0	0	0,535
2009	0,077	0,088	0,0598	0	0,214	0,022	0	0,357
2010	0,0723	0,048	0,103	0	0,12	0	0	0,357

(vlastní výpočty, 2012)

Tabulka č. 9. a tabulka č. 10. vyjadřují relativní četnosti výskytu genetické oční vady CEA u jednotlivých plemen dle pohlaví psů v rámci šesti sledovaných let.

Tabulka č. 9. Relativní četnosti výskytu u fen

feny	BC	CR	CS	AS	SH
2005	0	0,182	0	0	0,158
2006	0	0,286	0,5	0	0,132
2007	0	0,75	0	0	0,077
2008	0,017	0,5	0	0	0,231
2009	0	0,3	0,04	0	0,190
2010	0	0	0	0	0,132

(vlastní výpočty, 2012)

Tabulka č. 10. Relativní četnosti výskytu u psů

psi	BC	CR	CS	AS	SH
2005	0,048	0,444	0	0	0,143
2006	0,051	0,571	0	0	0,071
2007	0,049	0,667	0	0	0
2008	0	0,571	0	0	0,227
2009	0	0,136	0	0	0,167
2010	0	0,214	0	0	0,224

(vlastní výpočty, 2012)

Tabulky relativních četností slouží k vyhodnocení pomocí následujících statistických testů.

5.4. Výsledky statistických testů

Vzhledem k naprosto nulovému výskytu genetické oční vady u plemene australský ovčák, nebylo toto plemeno zahrnuto do žádného ze statistických testů. Výsledky testování čtyř ostatních plemen vyjadřují následující tabulky č. 11 – 13. Všechny testy byly provedeny na hladině významnosti 5% ($\alpha = 0,05$).

Tabulka č. 11. Výsledky statistické analýzy prostřednictvím Chí-kvadrát testu

CHÍ - KVADRÁT TEST

H0: rozdělení výskytu choroby je pro všechny roky stejné

	CELKEM	f	m	BC	CR	CS	SH
test value	12,813	9,718	7,988	8,384	20,776	30,588	9,201
p value	0,026	0,084	0,157	0,136	0,001	0	0,101
H0	zamítáme	nezamítáme	nezamítáme	nezamítáme	zamítáme	zamítáme	nezamítáme

(vlastní výpočty, 2012)

Prostřednictvím Chí-kvadrát testu byl potvrzen statisticky významný rozdíl středních hodnot s 95 % pravděpodobností v rámci celé sledované skupiny psů. Tento test ovšem nepotvrdil průkazný rozdíl středních hodnot v průběhu let při rozdělení skupiny na feny a psy.

Výsledky testování průkaznosti rozdílu středních hodnot v průběhu let u jednotlivých plemen byly shodné jako u následující jednofaktorové analýzy rozptylu.

V případě dlouhosrstých kolíí a krátkosrstých kolíí byly zaznamenány statisticky průkazné rozdíly středních hodnot výskytu choroby v průběhu let s 95 % pravděpodobností, u border kolíí a šeltíí nebyl statisticky významný rozdíl potvrzen.

Tabulka č. 12. Výsledky jednofaktorové analýzy rozptylu

ANOVA

H0: rovnost středních hodnot

	CELKEM	f	m	BC	CR	CS	SH
p value	0,02	0,08	0,157	0,136	0,001	0	0,101
F-test value	2,576	1,955	1,605	1,684	4,643	7,926	1,856
df 1	5	5	5	5	5	5	5
df 2	1521	832	683	738	149	111	505
H0	zamítáme	zamítáme	nezamítáme	nezamítáme	zamítáme	zamítáme	nezamítáme

(vlastní výpočty, 2012)

Pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) bylo prokázáno, že střední hodnoty relativních četností výskytu genetické oční vady CEA, v rámci celé sledované skupiny, se v průběhu let prokazatelně liší s 95 % pravděpodobností.

Při testování relativních četností výskytu CEA dle pohlaví byl u fen rozdíl středních hodnot potvrzen, u psů se ho tímto testem potvrdit nepodařilo.

Z hlediska testování jednotlivých plemen byl statisticky průkazný rozdíl středních hodnot s 95 % pravděpodobností potvrzen u plemen dlouhosrstá kolie a krátkosrstá kolie. V případě border kolií a šeltií nebyl statisticky významný rozdíl středních hodnot potvrzen.

Tabulka č. 13. Výsledky statistické analýzy vyjádřené lineární regreseí

LINEÁRNÍ REGRESE

t - test H0: koef. regrese je roven 0, t.j., žádný nekonstantní trend v závis. na letech neexistuje

	CELKEM	f	m	BC	CR	CS	SH
t test value	-0,851	-0,687	-0,808	-4,279	-0,932	-0,806	0,905
p value	0,4431	0,5297	0,464	0,013	0,404	0,465	0,417
b	-0,006	-0,006	-0,008	-0,006	-0,043	-0,030	0,015
H0	nezamítáme	nezamítáme	nezamítáme	zamítáme	nezamítáme	nezamítáme	nezamítáme
relativní výskyt	pokles	pokles	pokles	x	pokles	pokles	nárůst

(vlastní výpočty, 2012)

Statistická analýza pomocí t-testu v rámci lineární regrese přinesla nejzajímavější výsledky. Přestože relativní výskyt genetické oční vady CEA měl v posledních letech sledování v rámci celé skupiny vyšetřených psů klesající tendenci, nebyl t-testem tento fakt potvrzen jako statisticky průkazný s 95 % pravděpodobností v rámci celé sledované skupiny ani při rozdělení dle pohlaví na feny a psy.

Při testování jednotlivých plemen je tendence poklesu relativních četností genetické oční vady viditelná u dlouhosrstých a krátkosrstých kolií, u šeltií je dokonce tendence k nárůstu četnosti oční vady v průběhu let. Border kolie se zdají být jediným plemenem, u kterého by mohl být statisticky průkazný rozdíl potvrzen, ale vzhledem k ojedinělým nálezům pouze v určitých letech nelze toto hodnocení považovat za objektivní.

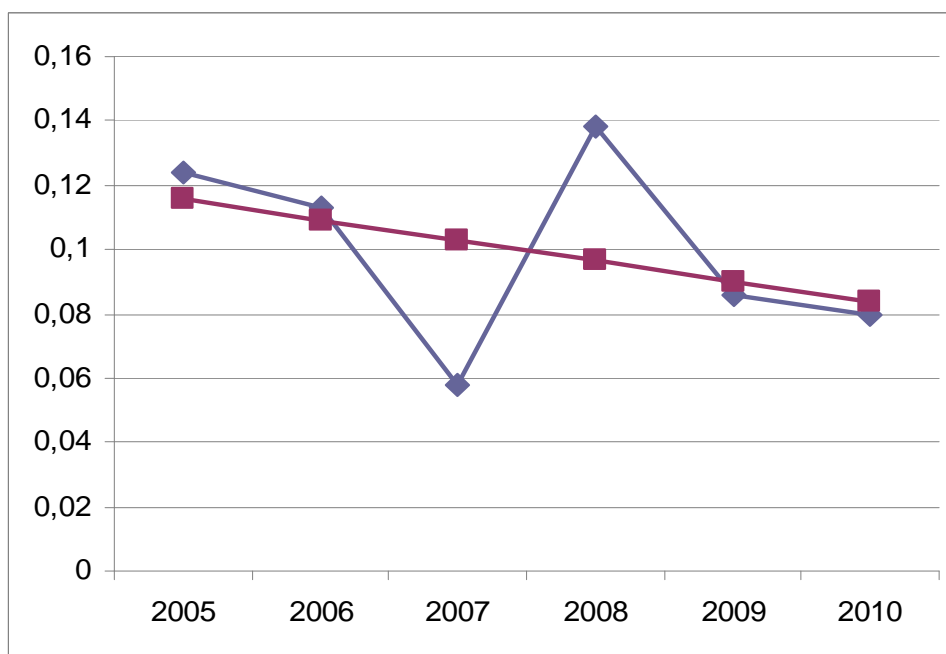
Tabulka č. 14. Lineární regrese pro výskyt CEA ve sledované skupině psů

CELKEM

rok	rel. četnost	fitted values
2005	0,1236	0,1155
2006	0,1132	0,1092
2007	0,0577	0,1028
2008	0,1380	0,0965
2009	0,0859	0,0902
2010	0,0796	0,0838

(vlastní výpočty, 2012)

Graf 3. Vyjádření lineární regrese v průběhu let pro celou sledovanou skupinu



Z grafu 3. je zřejmé, že četnost výskytu Anomálie oka kolií měla v rámci celé sledované skupiny psů od roku 2005 do roku 2006 klesající tendenci, v roce 2007 byl pokles nejvýraznější a poté, v roce 2008, došlo naopak k největšímu nárůstu případů onemocnění. Od tohoto bodu výskyt onemocnění v roce 2009 opět výrazně klesl a v roce 2010 zaznamenáváme stále mírně klesající tendenci.

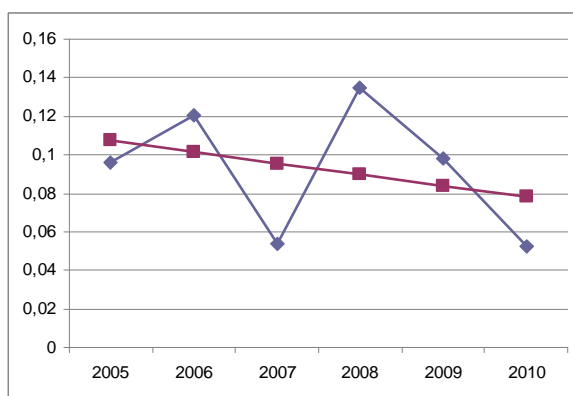
Tabulka č. 15. Lineární regrese pro výskyt CEA v závislosti na pohlaví psů

DLE POHLAVÍ

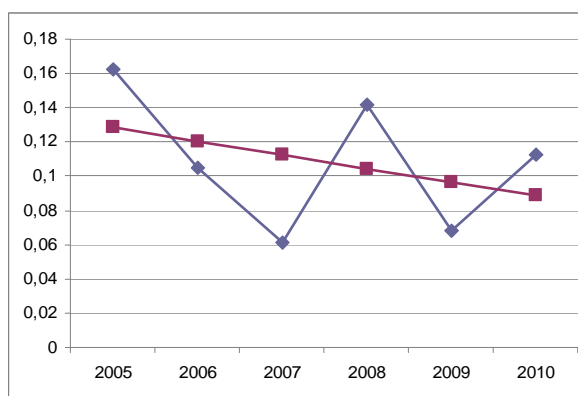
rok	female		male	
	rel. četnost	fitted values	rel. četnost	fitted values
2005	0,0962	0,1074	0,1622	0,1283
2006	0,1205	0,1014	0,1053	0,1204
2007	0,0541	0,0956	0,0609	0,1124
2008	0,1351	0,0897	0,1414	0,1045
2009	0,0979	0,0838	0,0683	0,0966
2010	0,0523	0,0779	0,1127	0,0886

(vlastní výpočty, 2012)

Graf 4. Vyjádření lineární regrese v průběhu let u fen



Graf 5. Vyjádření lineární regrese v průběhu let u psů



Pomocí lineární regrese byla vyjádřena tendence výskytu oční vady CEA u všech vyšetřených fen. Jak je patrné z grafu 4., mezi roky 2005 a 2006 je zaznamenán nárůst pozitivních nálezů, od roku 2006 do roku 2007 naopak výrazný pokles a opět v roce 2008 nejmarkantnější nárůst onemocnění. Od tohoto bodu až po rok 2010 je tendence výskytu CEA klesající.

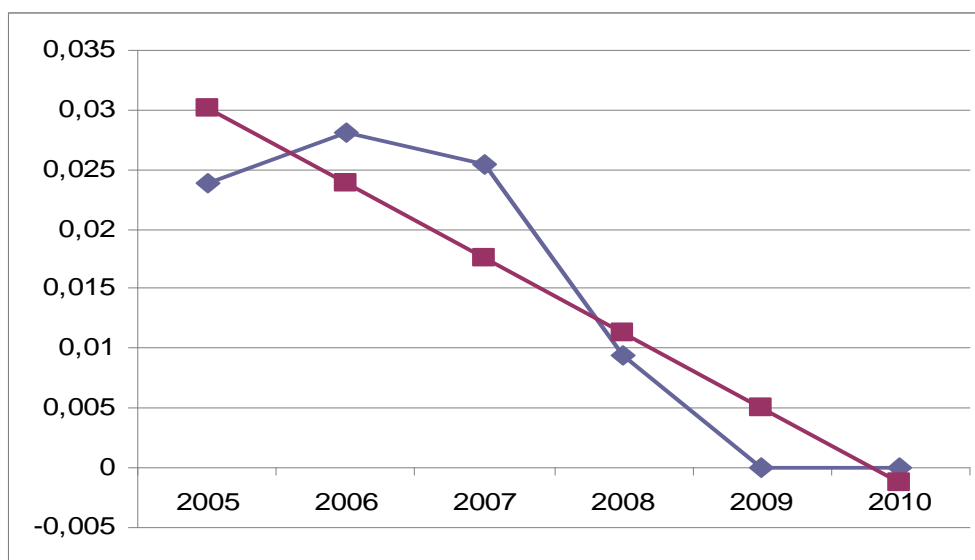
V grafu 5. je znázorněna lineární regrese pro výskyt CEA u všech vyšetřených psů (samců). Zde naopak od roku 2005 až do roku 2007 došlo k výraznému poklesu a poté v roce 2008 opět k největšímu nárůstu pozitivních nálezů. V roce 2009 výskyt choroby poklesl, ale k roku 2010 se opět zvýšil.

Tabulka č. 16. Lineární regrese pro výskyt CEA
u plemene border kolie

BORDER KOLIE		
rok	rel. četnost	fitted values
2005	0,0238	0,0302
2006	0,0282	0,0239
2007	0,0254	0,0176
2008	0,0094	0,0113
2009	0	0,0051
2010	0	0,0012

(vlastní výpočty, 2012)

Graf 6. Průběh lineární regrese u border kolií



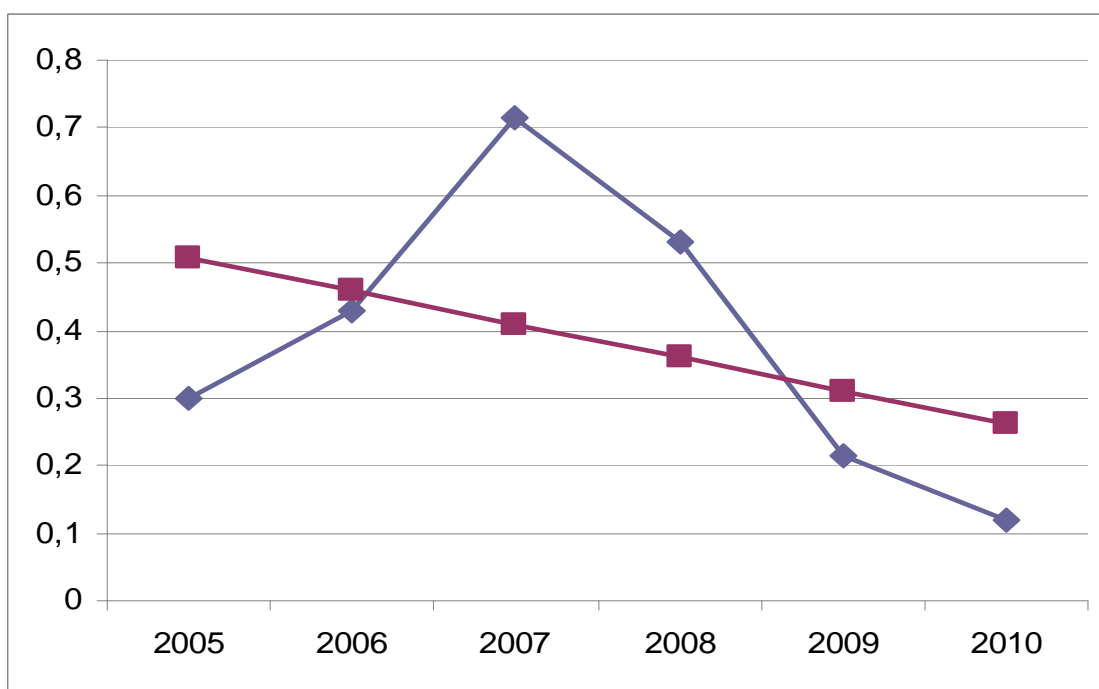
Border kolie patří mezi plemena podstatně méně zatížená genetickou oční vadou CEA v porovnání s dlouhosrstou kolií a šeltíí. Jak znázorňuje graf 6, relativní četnost výskytu onemocnění se u tohoto plemene zvýšila od roku 2005 do roku 2006. V roce 2007 se relativní četnost pozitivních nálezů snížila a od tohoto roku se nadále snižuje až do roku 2009, kdy nebyl zaznamenán žádný pozitivní nález. Tak je tomu i v roce 2010.

Tabulka č. 17. Lineární regrese pro výskyt CEA
u plemene dlouhosrstá kolie

DLOUHOSRSTÁ KOLIE		
rok	rel. četnost	fitted values
2005	0,3	0,5081
2006	0,4286	0,4588
2007	0,7143	0,4095
2008	0,5319	0,3602
2009	0,2143	0,3109
2010	0,12	0,2616

(vlastní výpočty, 2012)

Graf. 7. Průběh lineární regrese u dlouhosrstých kolií



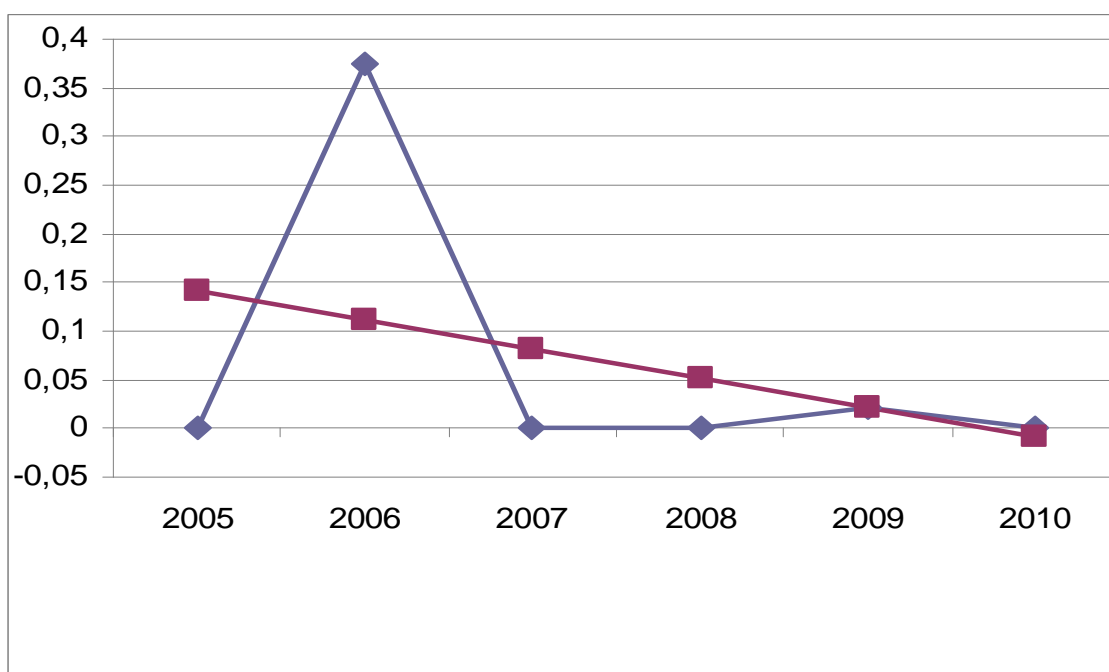
Dlouhosrstá kolie je plemeno nejvýrazněji zatížené genetickou oční vadou CEA. Z grafu 7 je patrné, že od začátku diagnostiky v roce 2005 se počet pozitivních nálezů zvyšoval k roku 2006, poté byl v roce 2007 zaznamenán nejvýraznější výskyt, ale od tohoto roku má četnost výskytu onemocnění v letech 2008 - 2010 postupně klesající tendenci.

Tabulka č. 18. Lineární regrese pro výskyt CEA
u plemene krátkosrstá kolie

KRÁTKOSRSTÁ KOLIE		
rok	rel. četnost	fitted values
2005	0	0,1418
2006	0,375	0,1115
2007	0	0,0813
2008	0	0,0509
2009	0,0217	0,0207
2010	0	0,0096

(vlastní výpočty, 2012)

Graf 8. Průběh lineární regrese u krátkosrstých kolií



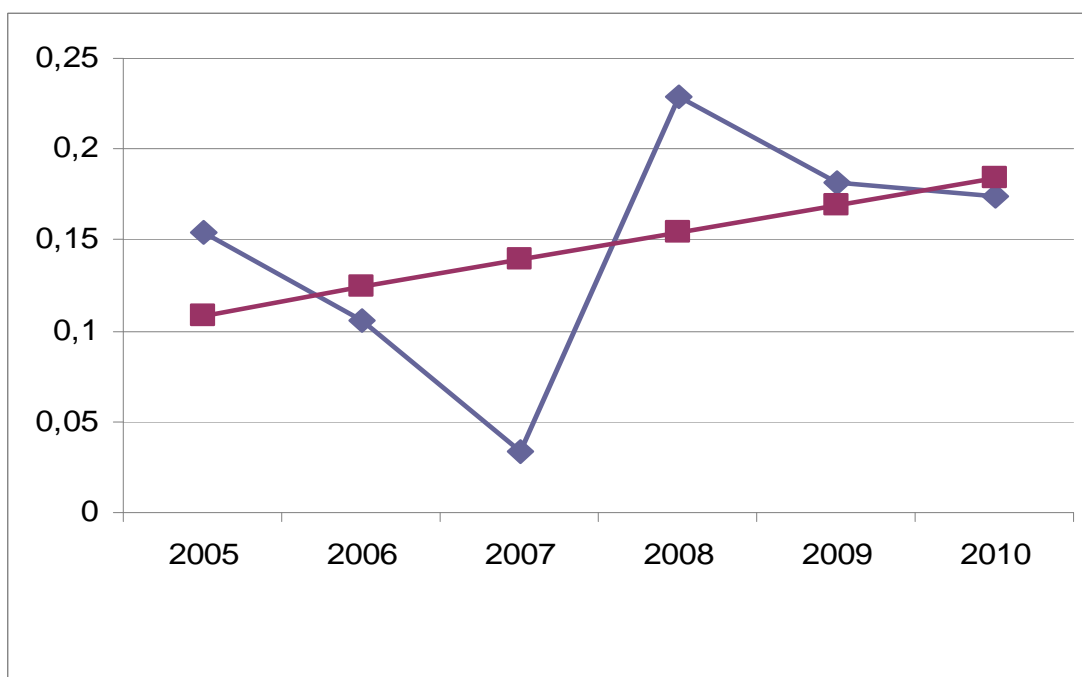
Krátkosrsté kolie jsou genetickou oční vadou CEA zatíženy v podstatně menší míře než dlouhosrsté kolie. Vzhledem k malému počtu pozitivních nálezů, které byly diagnostikovány, pouze v některých letech sledovaného období se lineární regrese jeví jako výrazně stoupající od roku 2005, kdy nebyl diagnostikován žádný případ onemocnění, do roku 2006 a následně je zde stejný pokles k roku 2007, kdy byl počet případů opět nulový. Tak tomu bylo i v roce 2008. Poté, od roku 2009 bylo zaznamenáno několik případů výskytu choroby a v roce 2010 se četnost znovu mírně snižuje.

Tabulka č. 19. Lineární regrese pro výskyt CEA u plemene šeltie

ŠELTIE		
rok	rel. četnost	fitted values
2005	0,1538	0,1088
2006	0,1061	0,1239
2007	0,0333	0,1389
2008	0,2290	0,1539
2009	0,1818	0,1690
2010	0,1746	0,1841

(vlastní výpočty, 2012)

Graf 9. Průběh lineární regrese u šeltií



Plemeno šeltie vykazuje z hlediska výskytu genetické oční vady CEA nejrozdílnější výsledky od všech předchozích plemen. Četnost pozitivních nálezů se od roku 2005 do roku 2006 a následně k roku 2007 výrazně snižuje. Poté, v roce 2008 zaznamenáváme nejvýraznější nárůst onemocnění, v roce 2009 mírný pokles a do roku 2010 je výskyt choroby pouze mírně snížený než v předchozím roce.

6. Diskuse

Předmětem této studie bylo podrobné zpracování a následné statistické vyhodnocení frekvence výskytu genetické oční vady Anomálie oka kolií (CEA) v rámci chovu psů v České republice. Z celkového počtu 1769 vyšetřených psů (tabulka č.4) bylo diagnostikováno 154 pozitivních nálezů této genetické oční vady (tabulka č.5). Relativní četnosti výskytu CEA byly vyhodnoceny v závislosti na plemenné příslušnosti a pohlaví psů.

V případě border kolií bylo zjištěno 1,08 % pozitivních nálezů. Tento výsledek je téměř srovnatelný s autory, kteří prováděli obdobné studie.

Walser-Reinhardt et al., (2009) stanovili výsledek relativní četnosti výskytu CEA v rámci studie provedené ve Švýcarsku u border kolií na 0,7 %.

U dlouhosrstých kolií, které jsou celosvětově plemenem nejvíce zatíženým genetickou oční vadou CEA se jednalo o 34,84 % pozitivních nálezů. V tomto případě se výsledek značně liší od studií prováděných v letech předchozích, kdy v roce 1969 bylo zjištěno, že genetickou oční vadou CEA je postiženo 75 – 97 % kolií v USA, 64 % v Anglii, více než 50 % ve Švédsku a 41 % v Norsku (Gellat, 2000). V rámci výzkumu provedeného v USA v letech 1991 – 1999 bylo zjištěno již přesně 77 % pozitivních nálezů (Gionfriddo, 2000).

Taktéž Bedford (1982) publikuje výsledek své práce z 80. let a to 64 %. Naopak v novodobější studii provedené v Německu byl výsledek podstatně nižší, stanovený na 22,6 % (Beuing, Erhardt, 2002). Výsledek naší práce se nejvíce blíží závěru, ke kterému došli vědci ve Švýcarsku v letech 1999 – 2007, kde bylo zjištěno 36,9 % pozitivních nálezů (Walser-Reinhardt et al., 2009). Z těchto poznatků lze usuzovat na pravděpodobnost postupně se snižující frekvence výskytu Anomálie oka kolií u plemene, pro které choroba představuje největší hrozbu.

Krátkosrsté kolie jsou plemenem patřícím v ČR k poměrně nově se rozšiřujícím a pravděpodobně z toho důvodu zde byla relativní četnost výskytu CEA stanovena pouze na 3,48 %, což je výsledek podstatně nižší oproti výše uváděné studii ze Švýcarska v letech 1999 – 2007, kde bylo diagnostikováno 8,9 % pozitivních nálezů (Walser-Reinhardt et al., 2009). Vzhledem k tomu, že krátkosrsté kolie zařazené do námi zpracovaného statistického souboru byly vyšetřeny převážně

v letech 2008 – 2010, je velmi pravděpodobné, že se jedná o potomky již prověřených rodičů.

Plemeno šeltie se řadí na druhou pozici v řadě plemen psů zatížených genetickou oční vadou CEA. Zde byla relativní četnost výskytu stanovena na 17,22 %, což se velmi blíží výsledku německých vědců, kteří ve své zemi stanovili relativní četnost 19,7 % pozitivních nálezů (Beuing, Erhardt, 2002). Práce provedená ve Švýcarsku v letech 1999 – 2007 přinesla výsledek ještě nižší a to 13,1 % (Walser-Reinhardt et al., 2009). U šeltií se tedy relativní četnost výskytu CEA v posledním desetiletí také výrazně snížila oproti výsledkům zjištěným v letech minulých. Bedford (1982) stanovil ve svém výzkumu z 80. let relativní četnost výskytu CEA u tohoto plemene na 72 % pozitivních nálezů.

Australský ovčák je plemeno v ČR chované také relativně krátce. V průběhu šesti let zde nebyl zaznamenán žádný pozitivní nález. I toto zjištění je ve shodě s ostatními autory zabývajícími se problematikou genetických očních vad u psů např. (Sharp, 2001).

Na základě statistického vyhodnocení frekvencí výskytu v závislosti na pohlaví bylo zjištěno, že v případě dlouhosrstých kolií, šeltií i border kolií, byly relativní četnosti výskytu vždy vyšší u psů, u krátkosrstých kolií byla genetická oční vada CEA diagnostikována pouze u fen (graf 2). Rozdíl v četnostech je však natolik nízký, že ho nelze statisticky prokázat. I toto zjištění je v naprostém souladu s dalšími autory (Walser-Reinhardt et al., 2009), (Bjerkas, 1991).

K vyhodnocení závislosti sledovaných znaků byl zvolen Chí-kvadrát test, který prokázal statisticky průkazný rozdíl středních hodnot relativních četností výskytu genetické oční vady CEA s 95 % pravděpodobností, jak v rámci celého statistického souboru během šesti sledovaných let, tak u dvou testovaných plemen – dlouhosrstá a krátkosrstá kolie. U plemen border kolie a šeltie nebyl pomocí chí-kvadrát testu statisticky významný rozdíl středních hodnot potvrzen. Taktéž se nepodařilo tímto testem potvrdit rozdíl středních hodnot při rozdělení skupiny psů dle pohlaví (tabulka. č. 11).

Pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) byl prokázán rozdíl středních hodnot relativních četností výskytu s 95 % pravděpodobností u celé sledované skupiny a při rozdělení dle pohlaví také u skupiny testovaných fen. V případě testovaných psů nebyl tento rozdíl pomocí ANOVY potvrzen. Dále byl prokázán rozdíl středních hodnot relativních četností výskytu CEA u plemen

dlouhosrstá a krátkosrstá kolie. U border kolií a šeltí nebyl statisticky významný rozdíl středních hodnot pomocí ANOVY potvrzen (tabulka č. 12).

Průběh sledovaných závislostí byl vyjádřen prostřednictvím lineární regrese a statistická nenulovost koeficientu regrese následně ověřena t-testem. Předpoklad klesající tendence v rámci testování celé skupiny i při rozdělení dle pohlaví na feny a psy, však nebyl t-testem potvrzen jako statisticky průkazný s 95 % pravděpodobností (tabulka č. 13).

Při hodnocení celé sledované skupiny měla relativní četnost výskytu CEA od roku 2005 do roku 2006 klesající tendenci, v roce 2007 byl pokles nejvýraznější a poté, v roce 2008, došlo naopak k největšímu nárůstu případů onemocnění. Od tohoto bodu výskyt onemocnění v roce 2009 opět výrazně klesl a v roce 2010 byla zaznamenána stále mírně klesající tendence výskytu CEA (graf 3).

U skupiny vyšetřených fen je patrné, že mezi roky 2005 a 2006 byl zaznamenán nárůst relativní četnosti pozitivních nálezů, od roku 2006 do roku 2007 naopak výrazný pokles a opět v roce 2008 nejmarkantnější nárůst onemocnění. Od tohoto bodu až po rok 2010 byla tendence výskytu CEA klesající (graf 4).

Ve skupině psů (samců) naopak od roku 2005 až do roku 2007 došlo k výraznému poklesu a poté v roce 2008 opět k největšímu nárůstu relativní četnosti pozitivních nálezů. V roce 2009 výskyt choroby poklesl, ale k roku 2010 se opět zvýšil (graf 5).

Vyhodnocení pomocí lineární regrese u jednotlivých plemen přineslo zajímavé výsledky. Relativní četnost výskytu onemocnění u border kolií se zvýšila od roku 2005 do roku 2006. V roce 2007 došlo k poklesu a od tohoto roku se nadále relativní četnost snižovala až do roku 2009, kdy nebyl zaznamenán žádný pozitivní nález. Tak je tomu i v roce 2010 (graf 6).

U plemene dlouhosrstá kolie se od začátku diagnostiky v roce 2005 počet pozitivních nálezů zvyšoval k roku 2006, poté byl v roce 2007 zaznamenán nejvýraznější výskyt, ale od tohoto roku měla relativní četnost výskytu onemocnění postupně klesající tendenci (graf 7).

V případě krátkosrstých kolií se lineární regrese jevila jako výrazně stoupající od roku 2005, kdy nebyl diagnostikován žádný případ onemocnění, k roku 2006 a následně byl zaznamenán stejný pokles k roku 2007, kdy se opět jednalo o nulový počet případů. Tak tomu bylo i v roce 2008. Poté, od roku 2009, bylo zaznamenáno

několik případů výskytu CEA a v roce 2010 se relativní četnost znovu mírně snížila (graf 8).

U šeltí relativní četnost pozitivních nálezů od roku 2005 do roku 2006 a následně k roku 2007 výrazně klesla. Poté, v roce 2008 byl zaznamenán nejvýraznější nárůst onemocnění, v roce 2009 mírný pokles a do roku 2010 byl výskyt choroby pouze mírně snížený než v předchozím roce (graf 9).

Přestože grafické vyjádření lineární regrese znázorňuje v posledních letech klesající tendenci v relativních četnostech výskytu genetické oční vady CEA v rámci celé sledované skupiny psů, u dvou vysoce zastoupených plemen (dlouhosrstá kolie a border kolie) a taktéž u skupiny vyšetřených fen při rozdělení dle pohlaví, nebyl tento trend při použití t-testu statisticky prokázán.

Stanovená hypotéza „frekvence výskytu genetické oční vady CEA se v kontrolovaných chovech v průběhu let snižuje,“ tudíž nebyla potvrzena.

Takový výsledek může být podmíněn různými faktory. V teorii se pro použití t-testu předpokládá normální rozdělení náhodné veličiny. To u zde zpracovaného statistického souboru dat není možné. Každé plemeno je zastoupeno variabilním počtem psů v různých letech. Důvodem toho je s největší pravděpodobností výše popularity určitých plemen, chovatelský zájem a informovanost v problematice genetických očních vad. Délka sledované časové řady je také poměrně krátká. Tento fakt v kombinaci s relativně vysokým rozptylem relativních četností výskytu genetické oční vady, způsobili vysoké odchylky pozorovaných a regresí vypočítaných hodnot, což způsobuje nízkou testovou hodnotu a vede k nezamítnutí hypotézy nulovosti regresního koeficientu.

7. Závěr

Problematika genetických očních vad v chovu psů se v České republice stala v posledních letech stále častěji diskutovaným tématem. Tato diplomová práce byla zaměřena na genetickou oční vadu „Anomálie oka kolií,“ která má svá specifika v diagnostice i vazbě na plemennou příslušnost psů, které postihuje.

Na základě výsledků oftalmologických vyšetření, probíhajících v letech 2005 – 2010, byly stanoveny relativní četnosti výskytu CEA u pěti testovaných plemen, které se ukázaly být v dobré shodě s výsledky některých studií prováděných v posledních letech světovými odborníky u dlouhosrstých kolií, border kolií, šeltií i australských ovčáků. Mírná odlišnost byla zaznamenána u plemene krátkosrstá kolie.

Přestože námi stanovená hypotéza o snižující se frekvenci výskytu genetické oční vady CEA v kontrolovaných chovech nebyla prostřednictvím statistických testů potvrzena, z výsledků relativních četností vyjádřených pomocí lineární regrese je patrné, že v posledních dvou letech došlo u třech afektovaných plemen k viditelnému poklesu ve frekvenci pozitivních nálezů. Výjimkou je opět plemeno krátkosrstá kolie, které má v ČR relativně kratší chovatelskou tradici a počet vyšetřených jedinců je ve statistickém souboru v průběhu šesti sledovaných let velice nerovnoměrný. Frekvence výskytu genetické oční vady u tohoto plemene byla nižší v porovnání s výsledky studií prováděných v dalších evropských zemích.

Význam selekce psů s pozitivním nálezem a jejich vyřazení z chovu prostřednictvím oftalmologického vyšetření je však z této studie zřejmý. K zvýšení pravděpodobnosti potvrzení námi stanovené hypotézy, by bylo třeba výrazně prodloužit dobu sledování a tím také rozšířit statistický soubor vyšetřených jedinců.

Tento způsob postupné eliminace „Anomálie oka kolií“ z chovu psů je však časově náročný, protože vyřazuje pouze vadou postižené jedince. Psi, kteří ne onemocní, ale jsou přenašeči CEA, budou po této selekci do chovu stále zařazováni. Stanovení relativních četností výskytu přináší jasnou představu o zastoupení heterozygotů v populaci jednotlivých plemen, kdy na každé 1 % pozitivních nálezů (homozygotů recesivních) připadá 18 % heterozygotů – přenašečů. V případě každých 10 % pozitivních nálezů jde již o 44 % heterozygotů v populaci plemene (Grandjean et al., 2010). Oftalmologické vyšetření každého psa se nikdy nevyrovná zcela jasnému stanovení genotypu prostřednictvím testu DNA. Ten je ovšem ekonomicky výrazně náročnější. V současné době není v ČR stanoven přesný řád,

stejný pro všechna afektovaná plemena, dle kterého by chovatel byl povinen nechat každé své štěně vyšetřit jednou či druhou metodou. Podmínky jednotlivých chovatelských klubů jsou velice individuální a v průběhu času se také mění. Řešení problematiky se tedy nabízí především ve sjednocení pravidel uchovňování psů na základě selekce na genetickou oční vadu CEA. Vzhledem k ekonomické náročnosti testu DNA a teprve postupně se rozšiřující osvětě v problematice genetických očních vad, má oftalmologické vyšetření své výrazné opodstatnění, a na základě této studie přináší i své výsledky.

8. Přehled použité literatury

ACLAND, G.M., 2005, RETINAL DISORDERS IN BORDER COLLIES [online]
Dostupné: http://www.dogstuff.info/retinal_disorders_in_border_collies_acland.html

BEDFORD, P.G., 1982, COLLIE EYE ANOMALY IN THE UNITED KINGDOM., Department of Small Animal Medicine and Surgery, Royal Veterinary College, Vet Rec.111(12):263-707147637

BEDFORD, P.G., 1998, COLLIE EYE ANOMALY IN THE LANCASHIRE HEELER, Department of Small Animal Medicine and Surgery, Royal Veterinary College, Vet Rec.143(13):354-6.

BERÁNEK, J., 2001, DĚDIČNÉ OČNÍ VADY, odborné články, [online] dostupné z: <http://www.veterinainfo.cz/script/articleDetail.asp?rid=33>

BEUING, G., ERHARDT, G., 2002, INFLUENCES ON THE FREQUENCY OF ESTIMATED COLLIE EYE ANOMALY (CEA) IN COLLIES AND SHELTIES IN PREVENTIVE EXAMINATION-RESULTS OF A BREEDING CLUB ORGANISATIO, Kleintierpraxis, GERMANY, 47, ISSN: 0023-2076

BJERKAS, E., 1991, COLLIE EYE ANOMALY IN THE ROUGH COLLIE IN NORWAY, Journal of Small Animal Practice, British Veterinary Assoc., LONDON, ENGLAND,32, ISSN 0022-4510

CAVALCHINI, L. G., MARELLI, S. P., STRILLACCI, M.G., POLLI M., 2007, INBREEDING IN THE BORDER COLLIE ITALIAN POPULATION, Istituto di Zootechnica. Università di Milano, Italy, 66, DOI: 10.4081/ijas

CRISPIN, S., 2005, NOTES OF VETERINARY OPHTHALMOLOGY, Blackwell Science Ltd., Oxford, UK, 161 – 163 s., ISBN 0-632.06416-1

DOSTÁL, J., 1995, CHOV PSŮ – GENETIKA V KYNOLOGICKÉ PRAXI, Dona, České Budějovice, 115 – 125 s., ISBN 80-85463-58-X

DOSTÁL, J., HORÁK, P., HRDLICOVÁ, A., STRATIL, A., 2010, SIMPLIFIED PCR ANALYSIS OF A MUTATION IN THE NHEJ1 GENE CAUSING COLLIE EYE ANOMALY IN SOME DOG BREEDS, Czech Journal of Animal Science, Czech Acad Agric Sci, Czech Republic, 55, ISSN 1212-1819

GELATT, K.N., 2007, VETERINARY OPHTHALMOLOGY, fourth edition, Blackwell Publishing Ltd., Oxford, 965 – 967 s., ISBN 978-0-7817-6657-9/2

GELATT, K.N., 2000, ESSENTIALS OF VETERINARY OPHTHALMOLOGY, Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland, USA, 270 – 277 s., ISBN 0-683-30077-6

GIONFRIDDO, J., 2000, COLLIE EYE ANOMALY [online]

Dostupné z: <http://www.vmdb.org/collie%20eye.html>

Reference: Magrane W. 1954, Congenital anomaly of the optic nerve in collies. North Am Vet 34:646.

GRANDJEAN, D., PIERSON, P., RIVIERE, S., GRELLET, A., BOOGAERTS, C., COLLIARD, L., THOREL, J., OVERALL, K., ZABEL, U., 2010, DOG BREEDING, fourth edition, Royal Canin SAS, Diffa Print Italia, 202 - 203 s., english version

HORÁK, P., 2005, ANALÝZA KANDIDÁTNÍCH GENŮ USH1G A FSCN2 PRO PROGRESIVNÍ DEGENERACI TYČINEK A ČÍPKŮ U PSŮ, Doktorská disertační práce, Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat, Brno, 20 s.

CHEN, W. K., SWARTZ, J.D., RUSH L. J., CARLOS, E., ALVAREZ, E., 2009, MAPPING DNA STRUCTURAL VARIATION IN DOGS, Geonome Res., Cold Spring Harbor Laboratory Press, USA, 509, doi:10.1101/gr.083741.108

CHANG, H. S, MIZUKAMI, K., YABUKI , A., HOSSAIN, M. A., RAHMAN, M. M., UDDIN, M. M., ARAI , T., YAMATO , O., 2010, A NOVEL RAPID GENOTYPING TECHNIQUE FOR COLLIE EYE ANOMALY: SYBR GREEN-BASED REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION METHOD APPLICABLE TO BLOOD AND SALIVA SPECIMENS ON FLINDERS TECHNOLOGY ASSOCIATES FILTER PAPER, Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, Yamato, Kagoshima Univ, Clin Pathol Lab, Dept Vet Clin Sci, Japan, 22, ISSN 1040-6387

KOTMAN, J., RAUŠER, P., KECOVÁ, H., TRNKOVÁ, P., KRISOVÁ, Š., 2003, VETERINÁRNÍ OFTALMOLOGIE, Noviko a.s., Brno, 144 – 145 s., ISBN 80-86542-03-3

LOWE, J.K, KUKEKOVA A.V, KIRKNESS, E.F, LANGLOIS, M.C, AGUIRRE, G.D, ACLAND, G.M, OSTRANDER, E.A , 2003, LINKAGE MAPPING OF THE PRIMARY DISEASE LOCUS FOR COLLIE EYE ANOMALY, Genomics, Academic Press Inc. Elsevier Science, San Diego, USA, 82, ISSN 0888-7543

LENSKÁ, B., 2011, PERSONAL COMM., Praha

LEPPÄNEN M, SALONIEMI H., 1998, SCREENING AND CONTROLLING CANINE INHERITED OCULAR DISEASES IN FINLAND: EPIDEMIOLOGICAL, ECONOMICAL AND HEALTH PROMOTIONAL ASPEKT, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Clinical Sciences, University of Helsinki, Finland.

PARKER, H.G., KUKEKOVA, A.V., AKEY, D.T., GOLDSTEIN, O., KIRKNESS, E.F., BAYSAC, K.C., MOSHER, D.S., AGUIRRE, G.D., ACLAND, G.M., OSTRANDER, E.A, 2007, BREED RELATIONSHIPS FACILITATE FINE-MAPPING STUDIES: A 7.8-KB DELETION CONSEGREGATES WITH COLLIE EYE ANOMALY ACROSS MULTIPLE DOG BREEDS, Genome research, Cold Spring Harbor lab press, Publications dept, USA, 17, ISSN 1088-9051

ŘEZANKOVÁ, H., 2007, ANALÝZA DAT Z DOTAZNÍKOVÝCH ŠETŘENÍ
Kamil Minařík – Profesional Publishing, Praha, 35 – 38 s., ISBN 978-80-86946-49-8

SANDERS, G., 1991, COLLIE EYE ANOMALY, Australian Veterinary
Practitioner, Australian small animal vet assn., 21, ISSN: 0310-138X

SHARP, C.A., 2010, COLLIE EYE ANOMALY IN AUSTRALIAN SHEPPERDS,
Double Helix Network News [online]
Dostupné z: http://www.k9magazinefree.com/k9_perspective/iss2p12.shtml

SPAIDUT, H.W, NELL, B., 1999, COLLIE EYE ANOMALY (CEA) IN A
BORDER COLLIE IN AUSTRIA, Wiener tierarztliche monatsschrift, Vienna,
Austria, 86, ISSN 0043-535X

SVOBODA, M., SENIOR, D.F., DOUBEK, J., KLIMEŠ, J. a kol., 2008,
NEMOCI PSA A KOČKY, I. Díl, 2.vydání – Noviko a.s., Brno, 725 – 731 s., ISBN
978-80-86542-18-8

SURIYAPHOL, G., 2011, GENES ASSOCIATED WITH GENETIC DISEASES
IN COLLIES, SHETLAND SHEEPDOGS AND BORDER COLLIES, Thai journal
of veterinary medicine, Chulalongkorn univ, Fac veterinary sci., Bangkok, Thailand,
41, ISSN 0125-6491

WALDE, I., NEUMANN, W., 1991, INTERNATIONAL EYE EXAMINATION
CERTIFICATE FOR INHERITED EYE DISEASES IN DOGS, Wiener tierarztliche
monatsschrift, VIENNA, AUSTRIA, 78, ISSN 0043-535X

WALSER-REINHARDT L, HÄSSING M, SPIESS B., 2009, SCREENING AND
CONTROLLING CANINE INHERITED OCULAR DISEASES IN FINDLAND:
EPIDEMIOLOGICAL, ECONOMICAL AND HEALTH PROMOTIONAL
ASPECT, Departement für Pferde, Abteilung Ophthalmologie, Zürich.

WALLIN-HAKANSON, B, WALLIN-HAKANSON N, HEDHAMMAR, A.,
2000, INFLUENCE OF SELECTIVE BREEDING ON THE PREVALENCE OF
CHORIORETINAL DYSPLASIA AND COLOBOMA IN THE ROUGH COLLIE
IN SWEDEN, Journal of small animal practice, British veterinary assoc., London,
England, 41, ISSN 0022-4510

WALLIN-HAKANSON B, WALLIN-HAKANSON N, HEDHAMMAR A.,
2000, COLLIE EYE ANOMALLY IN THE ROUGH COLLIE IN SWEDEN
GENETIC TRANSMISSION AND INFLUENCE ON OFFSPRING VITALITY,
Journal of small animal practice, British veterinary assoc., London, England, 41,
ISSN 0022-4510

COLLIE EYE ANOMALY / CHORIOIDAL HYPOPLAZIA (CEA), 2005, Test
[online]

Dostupné z:http://www.optigen.com/opt9_test_cea_ch.html

Fotografie: DUCHKOVÁ, D., 2009, dostupné z: www.vetcentrum.cz