

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



Dědičná neutropénie u border kolíí

Bakalářská práce

Autor práce: Brunclíková Tereza

Vedoucí práce: MVDr. Krejčířová Romana

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Dědičná neutropénie u border kolíí" 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 5. dubna 2016

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala mé vedoucí bakalářské práce MVDr. Romaně Krejčířové za její ochotu a odborné vedení.

Dědičná neutropénie u border kolií

Souhrn

Border kolie pochází z oblasti Velké Británie, která se nazývá Border country. Je to ovčácký pes, který by měl být dobře ovladatelný, inteligentní, živý a pozorný. Pro uchovnění musí border kolie splnit podmínky pro bonitaci. Jedním z povinných testů je test na dědičnou neutropénii. Dědičná neutropénie je nemoc, u které dochází ke smrtelnému selhání imunitního systému.

Imunita neboli obrana organismu je jednou ze základních vlastností umožňující přežití. Základní schopnost buněk imunitního systému je rozpoznat při styku s jinými molekulami, zda jde o struktury vlastní či cizí. Další schopností imunitního systému je paměť, díky níž dojde k pohotovější, intenzivnější i rychlejší reakci při opakovaném setkání s již poznaným antigenem.

Neutrofilů jsou granulocyty (typ bílých krvinek), které obsahují granula, v nichž jsou aktivní látky podílející se na zánětlivých a alergických reakcích. Neutrofilů se vytvářejí v kostní dřeni. Krevním řečištěm se dostávají k místu zánětu, kde fagocytují bakterie.

Dědičná neutropénie (TNS) je dědičná autozomálně recesivní choroba. Dědičné onemocnění se přenáší z rodičů na potomky. U autozomálně recesivního onemocnění se jedná o přenos znaku recesivní alelou. Fenotypově se sledovaný znak projeví pouze u recesivních homozygotů. Heterozygoti jsou bez klinického projevu onemocnění, nelze je však fenotypově odlišit od homozygotů dominantních.

TNS je charakterizována značným nedostatkem neutrofilů v krvi, jelikož se nedostanou z kostní dřene do krevního oběhu, což je způsobeno jejich zadržením v místě vzniku, kostní dřeni.

Předpokládá se, že všechny případy TNS jsou odvozeny od jednoho předka, jelikož mají v rodokmenu stejného předka v minulých 6 generacích.

Vývoj postiženého psa je celkově zpomalený. Štěňata vykazují menší vzrůst, typický pro onemocnění TNS je tvar obličejové lebky podobající se fretce. Zvířata trpí horečkou a otoky kloubů. Nemocní psi umírají v nízkém věku z důvodu selhání imunitního systému.

Bylo zjištěno, že dědičná neutropénie je velmi podobná Cohenovu syndromu u lidí. Obě choroby mají podobné symptomy, bylo dokázáno, že se jedná o mutaci stejného genu.

Klíčová slova: imunitní systém, neutrofil, neutropénie, generační přenašeč, border kolie

Hereditary Neutropenia in Border Collies

Abstract

Border Collie comes from the part of the United Kingdom which is called Border Country. It's a herding dog, which should be obedient, smart, lively, and attentive. For breeding, Border Collies must fulfil bonitation conditions. One of the mandatory tests is the test on hereditary neutropenia. Hereditary neutropenia is a disease which causes a fatal immune system failure.

Immunity; or defences; is one of the basic features for survival. Basic ability of cells of the immune system is to recognize when in contact with other molecules the structure is inherent or not. Memory, which is another ability of the immune system, ensures a prompter, more intensive, and quicker response when meets already identified antigen repetitively.

Neutrophils are granulocytes (a type of white blood cells), which contain granules. These granules have active substances which participate in inflammation and allergic reactions. Neutrophils are produced in the bone marrow. They are brought by bloodstream to the site of inflammation where they phagocytose bacteria.

Hereditary neutropenia (Trapped Neutrophil Syndrome – TNS) is a hereditary autosomal recessive disease. Hereditary disease is transferred from parents to offspring. In an autosomal recessive disease a feature is transferred by a recessive allele. A monitored feature is phenotypically shown just with recessive homozygotes. Heterozygotes are with no clinical signs of the disease but they cannot be phenotypically distinguished from dominant homozygotes.

TNS is characterized by a significant lack of neutrophils in blood because they are not brought from the bone marrow into the blood circulation. This is caused by retention at the site of their origin – in the bone marrow.

It is assumed that all cases of TNS are derived from one ancestor because in the pedigrees they have the same ancestor in the past six generations.

Development of an affected dog is generally slowed down. Puppies have smaller size; and for TNS disease is typical a shape of facial skull which resembles a ferret. The individuals suffer from fever and swollen joints. Affected dogs are dying at an early age because of immune system failure.

It was found that hereditary neutropenia is very similar to Cohen syndrome, which is a human disease. Both diseases have similar symptoms; it has been proved that both are caused by mutation of the same gene.

Key words: Border Collie, generational carrier, immune system, neutropenia, neutrophils.

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Cíl práce	2
3 Literární rešerše.....	3
3.1 Border kolie.....	3
3.1.1 Historie plemene.....	3
3.1.2 Historie chovu v ČR	3
3.1.3 Standard border kolie	4
3.1.4 Chov border kolií.....	4
3.1.5 Zdraví u border kolií.....	4
3.2 Imunitní systém.....	6
3.2.1 Fyziologie imunitního systému	6
3.2.2 Buňky imunitního systému.....	7
3.2.2.1 Leukocyty	7
3.2.2.1.1 Granulocyty.....	7
3.2.2.1.2 Agranulocyty	9
3.2.2.2 Pomocné buňky.....	11
3.2.3 Kompletované reakce	11
3.2.4 Lymfatické orgány	11
3.2.4.1 Primární lymfatické orgány	11
3.2.4.2 Sekundární lymfatické orgány	13

3.2.5	Epiteliární bariéry	14
3.2.5.1	Mízní tkáň sliznic	14
3.2.5.2	Gastrointestinální systém	14
3.2.5.3	Respirační systém	15
3.2.5.4	Reprodukční systém	15
3.2.6	Látkové regulační faktory	16
3.2.7	Specifická imunita	17
3.2.7.1	Specifické obranné reakce	17
3.2.7.2	Imunoglobuliny	17
3.2.8	Nespecifická imunita	19
3.2.8.1	Nespecifické obranné reakce	19
3.2.9	Komplement	19
3.2.9.1	Biologická role komplementu	19
3.3	Dědičná neutropénie	21
3.3.1	Dědičné onemocnění	21
3.3.2	Autozomální recesivní nemoci	21
3.3.3	Dědičná neutropénie	22
3.3.3.1	Gen VPS13B	23
3.3.3.2	Příznaky TNS	23
3.3.3.3	Dědičnost TNS	25
3.3.3.4	DNA testy na TNS	26

3.3.3.5	Výskyt TNS ve světě a ČR	27
3.3.4	TNS a Cohenův syndrom	28
3.3.4.1	Cohenův syndrom	28
3.3.4.2	Podobnost TNS s Cohenovým syndromem	28
4	Závěr	29
5	Seznam literatury	30

1 Úvod

Dědičná neutropénie (TNS - Trapped Neutrophil Syndrome) border kolií je autozomálně recesivní onemocnění. Principem onemocnění je narušení funkce neutrofilů (jednoho z typů leukocytů) - neutrofilů nejsou z kostní dřeně, kde vznikají z kmenových buněk, vyplavovány do krve.

Neutropénie znamená snížený počet neutrofilů pod normální hodnotu. Snížený počet neutrofilů je příčinou selhání imunitního systému a následně větší vnímavostí postiženého jedince vůči infekcím. Při dědičné neutropénii nemohou být neutrofilů, vytvářející se v kostní dřeni, uvolněny do krevního oběhu. Po opakovaném napadení jedince infekcemi nastává totální vyčerpání imunitního systému a jedinec umírá.

2 Cíl práce

Cílem bakalářské práce je na základě studia aktuální odborné literatury zpracovat literární rešerši na téma dědičná neutropenie u border kolií. Součástí práce je popis příznaků, možnosti terapie a prevence vzniku tohoto onemocnění.

3 Literární rešerše

3.1 Border kolie

Border kolie je ovčácký pes. Řadí se podle FCI do první skupiny. Do této skupiny patří plemena ovčácká, pastevecká a honácká (CMKU, 2016).

3.1.1 Historie plemene

Border kolie pochází z Velké Británie, přímo z hraniční oblasti mezi Anglií a Skotskem. Tato oblast se nazývá Border country. Historie tohoto plemene sahá do doby před naším letopočtem. Vlastnosti ovčáckých a pasteveckých psů jsou popisovány starými Římany. Jejich popis je podobný vlastnostem dnešních border kolií. S Římany se tito pastevečtí a ovčáčtí psi dostali do Anglie. Další předchůdce border kolií je skandinávský pes podobný špicovi. Bohatství Velké Británie bylo postaveno na ovcích a jejich vlně. Ke koordinování obrovských stád ovcí byli ovčáčtí psi velmi potřební (BCCCZ, 2016).

Za jednoho z přímých předků dnešních border kolií je považovaný pes Old Hemp. Byl narozen v roce 1893.

Hlavním cílem chovatelů je zachovávat hlavní znaky border kolií, pro které jsou staletí chovány. Jsou to hlavně vynikající pracovní schopnosti, které jsou souborem instinktivních vloh a povahových vlastností (BCCCZ, 2016).

3.1.2 Historie chovu v ČR

V roce 1993 byly dovezeny a zapsány do plemenné knihy první border kolie. Z Anglie byla do ČR přivezena fena Mobella Jackie a pes Caristan Jaguar. Po těchto jedincích byl první vrh zapsán v plemenné knize ČMKU 22. 4. 1994. Poté přibývaly další importy ze zahraničí a počet chovaných zvířat se zvyšoval i díky domácím vrhům. Počty zapsaných jedinců každým rokem postupně narůstaly. Například v letech 2010 – 2012 se počet za rok zapsaných jedinců pohyboval mezi 800 – 900 psy (BCCCZ, 2016).

3.1.3 Standard border kolie

Povaha border kolie by neměla být ani agresivní, ani nervózní. Naopak border kolie by měla být dobře ovladatelná, živá, inteligentní a pozorná. Pohyb by měl být plynulý, volný a neúnavný. Border kolie má dvě varianty osrstění. Jedna je středně dlouhá a druhá varianta je krátká. Oba typy osrstění mají krycí srst hustou, střední textury s měkkou a hustou podsadou. Tímto se tvoří výborná ochrana proti povětrnostním vlivům. Středně dlouhý typ osrstění vytváří hřívu, kalhoty a prapor. Naopak srst krátká a hladká by měla být v obličejové části, na uších, na hrudních končetinách (s výjimkou praporečů) a na pánevních končetinách od hlezen k zemi. Jsou dovoleny různé druhy zbarvení osrstění, avšak nesmí převládat bílá barva. Ideální výška psa by měla být 53cm, u fen o něco méně. Není zde daný přesný rozměr (CMKU, 2016).

3.1.4 Chov border kolíí

BCCCZ (Border Collie Club Czech Republic) určuje pravidla pro chov border kolíí v ČR. Jsou to takzvané jednotlivé podmínky chovnosti. Každý jednotlivec musí absolvovat bonitaci, dále musí splnit jak zdravotní, tak exteriérová i povahová kritéria. Po splnění tohoto všeho je jedinec zařazen do chovu. Také výběr páru je pro uchovnění velmi důležitý (BCCCZ, 2016).

3.1.5 Zdraví u border kolíí

Border kolie je plemeno ještě relativně málo zatížené dědičnými chorobami. Již dlouho jsou povinná některá vyšetření (BCCCZ, 2016):

- **Dysplazie kyčelního kloubu (DKK)** je onemocnění charakteru dědičného a vývojového. Je to abnormální utváření kyčelního kloubu, které je charakterizováno nevratnými morfologickými změnami hlavice stehenní kosti a kloubní jamky (Krejčí, 2001).

- **Dysplazie loketního kloubu (DKL)** je dědičná vývojová vada pohybového aparátu. Loketní kloub je místem vzniku 3 kostí, proto příčin dysplazie v loketním kloubu může být více. Osteochondróza ramenního kloubu je zkratkou nazývaná OCD. Je to onemocnění chrupavky, ta nabývá neobvyklého vzrůstu. Může dojít k poškození, dokonce i k odloučení její části (BCCCZ).

- **Progresivní retinální atrofie (PRA)** je onemocnění sítnice. Speciální buňky, které vystýlají oční kouli a jsou odpovědné za příjem světelných paprsků, postupně odumírají (Trbolová, 2012).

- **Anomálie oka kolí (CEA)** je řazená mezi nemoci, které se projevují v raném věku psa. Je to dědičné onemocnění očí související s defektem zadní stěny bulby (Chmelíková et Petr, 2006).

- **Dědičná neutropénie (TNS)** je onemocnění, u kterého dochází ke smrtelnému selhání imunitního systému. V krvi je snížený počet neutrofilů pod normální hodnotu, což je spojeno se zvýšeným rizikem infekce (Chmelíková et al., 2007).

3.2 Imunitní systém

Imunita neboli obrana organismu je jednou ze základních vlastností umožňující jeho přežití. Hlavní podmínkou pro funkční imunitní systém je celkově zdravý organismus, především jeho endokrinní aparát. Defekty nebo dokonce absence imunitních reakcí organismus dělají zřetelně zranitelnějším (Mourek, 2005).

Imunitní systém je propojen s nervovým systémem a endokrinním systémem. Tyto složky se společně podílejí na zajištění integrity mnohobuněčného živočišného organismu a udržení jeho funkcí v životaschopných mezích (Toman et al., 2000).

3.2.1 Fyziologie imunitního systému

Imunitní systém netvoří přesně ohraničená anatomická struktura; tím se liší od ostatních soustav, jako je např. trávicí soustava, dýchací nebo kardiovaskulární. Je to difuzní orgán, který je tvořen z buněk - leukocytů (druh bílých krvinek), jež jsou zastoupeny v krvi, lymfě nebo jsou také usazeny v lymfatických orgánech (Ferenčík et al., 2005).

Jedna ze základních schopností buněk a molekul imunitního systému je aktivně rozpoznat při styku s jinými molekulami, zda jde o struktury vlastní nebo cizí. Těmto molekulám se říká antigeny (Hořejší et al., 2009). Za fyziologických podmínek imunitní systém na vlastní molekuly nereaguje, naopak při styku s cizími nebo odcizenými reaguje imunitní reakcí (Ferenčík et al., 2005). Nejčastějšími antigeny v těle jsou cizorodé látky (exoantigeny). Antigeny, nazývající se autoantigeny, pochází z organismu samotného (nejsou cizorodé) (Hořejší et al., 2009). Příčina alergického stavu je nadměrná imunitní reakce na určitý antigen, pak se tyto antigeny nazývají alergeny. Tato schopnost imunitního systému rozpoznání molekul umožňuje například imunologický dohled, takzvanou obranu před nádorově transformovanými nebo jinak pozměněnými vlastními buňkami. Dále také obranu před parazity a patogenními organizmy. A v neposlední řadě imunitní systém udržuje jedinečnost a chemickou individualitu každého jedince (Ferenčík et al., 2005).

Další ze základních vlastností imunitního systému je paměť, která umožňuje pohotovější, rychlejší a intenzivnější reakci při opakovaném setkání s již poznaným antigenem (Ferenčík et al., 2005). Specifičnost imunitního systému spadá také pod jeho základní vlastnosti. Je to vloha imunitního systému rozprostřít imunitní reakci jen proti malému úseku molekuly antigenu (antigenní determinant neboli epitop). Když už vznikne proti epitopu protilátka, bude reagovat

pouze s tím konkrétním epitopem nikoli s jinými na stejném nebo jiném antigenu (Ferenčík et al., 2005).

Také rozmanitost je součástí základních vlastností imunity. Imunitní systém má schopnost odpovědět na miliony různých antigenních determinantů, i na takové, které byly vyvinuty v laboratoři, tudíž se s nimi organismus nemohl potkat v přirozeném prostředí (Ferenčík et al., 2005).

Imunitní systém také obstarává odstraňování nefunkčních složek organismu. Jedná se například o buňky staré, mrtvé, poškozené a hynoucí nekrotózou. Imunitní systém odstraňuje i nadbytečné buňky, které umírají apoptózou (Toman et al., 2000).

3.2.2 Buňky imunitního systému

Buňky zúčastňující se imunitních reakcí (leukocyty) jsou rozděleny na buňky patřící imunitnímu systému a na pomocné, podpůrné buňky, které spadají do jiných systémů. V lymfatickém a krevním oběhu buňky účinkují jak jednotlivě, tak se shromažďují do shluků lymfoidní tkáně. Tato tkáň obsahuje: lymfocyty, buňky lymfocytům morfologicky podobné, dále jejich potomstvo a prekurzory. Poté se buňky shromažďují do primárních nebo sekundárních lymfoidních orgánů nebo také jen do neopouzdrěných shluků (Ferenčík et al., 2005).

3.2.2.1 Leukocyty

Bílé krvinky (leukocyty) plní funkci mobilní jednotky obranného systému organismu. Vždy mají jádro. Jsou to morfologicky i funkčně heterogenní buňky. Leukocyty se rozdělují na granulocyty a agranulocyty (Mourek, 2005).

3.2.2.1.1 Granulocyty

Všechny granulocyty mají cytoplazmatická granula obsahující aktivní látky, které se podílejí na zánětlivých a alergických reakcích (Ganong, 1995). Granulocyty kolují v krvi 6 - 20 hodin a neustále vystupují z krevního řečiště. Pokud jednou vystoupí, už se

nevracejí zpět. Jejich délka života ve tkáních je různá, obvykle 2 - 3 dny. Tělo opouští buď v místě zánětu, nebo také zažívací, dýchací, močovou i rozmnožovací soustavou. Granulocyty se rozdělují na tři typy pojmenované podle vzájemného vztahu jejich granulí ke kyselým a zásaditým barvivům (Reece, 2011).

Neutrofilly

Neutrofilly se nezbarvují silně zásaditými ani kyselými barvivami. Slabě využívají oba typy barev. Enzymy na trávení pozřených bakterií, virů a buněčných trosk poskytují modře zbarvené granule = lysozomy neutrofilů. Jeden z lysozomálních enzymů, který neutrofilly produkují, je peroxid vodíku. Je to bakteriocidní sloučenina, která je aktivována enzymem peroxidázou. Neutrofilly patří k účinným obranným mechanismům díky jejich pohyblivosti a velké schopnosti fagocytovat. Během bakteriálních infekcí se jejich počet rychle zvětšuje. Přestup neutrofilů z krve do místa zánětu probíhá čtyřmi způsoby:

- **Bakterie nebo degenerativní produkty ze zanícené tkáně mají chemickou přitažlivost (tzv. chemotaxe) a difundují intersticiálními prostory do kapilár a venul.**
- **Chemotaktické látky zvyšují propustnost cév a tím zvyšují přilnutí neutrofilů k endotelu cév.**
- **Diapedeze, kdy se neutrofilly protahují póry ve stěnách kapilár.**
- **Neutrofilly se dostávají améboidním pohybem (Reece, 2011).**

Po příchodu k zánětu začne neutrofil fagocytovat bakterie a také částičky rozpadlé tkáně. Uhynulý neutrofil i jeho buněčná tekutina se nazývá hnis. Velké množství hnisu, které je uzavřené pojivovou tkání se označuje jako absces (Reece, 2011).

Eozinofily

Eozinofily neboli acidofilní granulocyty jsou bílé krvinky, jejichž velká granula se barví kyselými barvivami výrazně červeně (Toman et al., 2000). Jeden z enzymů, které obsahují granule eozinofilů, se nazývá histamináza. Histamináza tlumí a ukončuje reakce alergického původu. Při napadání organismu některými endoparazity se počet eozinofilů zvyšuje. Parazitě

jsou obalení protilátkami, na jejichž povrch vypustí eozinofil obsah svých granulí (Reece, 2011).

Bazofily

Granule bazofilů se barví modře, to je dáno afinitou granul k zásaditým barvivům. Granule obsahují bradykinin, histamin, serotonin i lysozomální enzymy (začínají zánětlivou odpověď organismu). Bazofily nejsou schopny fagocytózy (Reece, 2011). Mají nezbytnou funkci při okamžité alergické reakci, k nimž patří projevy od mírné kopřivky a rýmy až po těžký anafylaktický šok (Ganong, 1995). Když se antigen dostane do kontaktu s protilátkou na buněčné membráně, bazofil praskne, uvolní se obsah jeho granulí a dojde k místní vaskulární a tkáňové reakci. Bazofilů je v krvi obvykle méně než 1 %.

Bazofily a eozinofily jsou ve vzájemné rovnováze. Bazofily alergické reakce podporují, naopak eozinofily je tlumí (Reece, 2011).

3.2.2.1.2 Agranulocyty

Agranulocyty jsou leukocyty, které nemají granule ve své plazmě. Dělí se na monocyty a lymfocyty (Ganong, 1995).

Monocyty

Monocyty žijí i několik let. Jsou to největší leukocyty. Kolují v krvi jako ještě nezralé buňky, poté vycestují do tkání, kde dospějí v makrofágy. Mají velmi důležitou funkci při imunitní látkové obraně. Na svém povrchu vystaví bakteriální antigen a takto zpracovaný předloží lymfocytům (Mourek, 2005). Makrofágy dokáží zabít fagocytované mikroby bakteriostatickými bílkovinami, nízkým pH a degradativními enzymy. Žijí déle než neutrofilů, díky tomu je početně převažují v místech zánětů. Dokonce jsou makrofágy přitahovány i mikroorganismy, které neutrofilů nelákají. Při chronických infekcích se jejich počet zvyšuje (Reece, 2011).

Lymfocyty

Lymfocyty se dělí morfologicky na malé a velké. Malé lymfocyty představují zralejší vývojová stádia velkých nezralých lymfocytů. Jejich krvetvorné kmenové buňky se nazývají lymfoblasty, z kterých se po jejich diferenciaci stanou lymfocyty. Lymfocyty se podle funkce dělí na B – lymfocyty a T – lymfocyty (Reece, 2011).

T – lymfocyty

Brzlík je místem diferenciaci kmenových buněk krátce před a po narození savců. T - lymfocyty jsou součástí buněčně zprostředkované imunity. Vytváří velké množství lymfocytů, které ničí antigeny. T – lymfocyty se dělí na tři typy:

- 1) Cytotoxické T buňky neboli killers buňky. Jejich receptory se vážou na specifické antigeny a uvolňují do buněk cytotoxickou látku. Tyto buňky také napadají buňky transplantovaných orgánů, rakovinové buňky.
- 2) Pomocné T buňky jsou nejvíce zastoupeným typem T – lymfocytů. Napomáhají k větší aktivaci cytotoxických T buněk, supresorových T buněk a B – lymfocytů.
- 3) Supresorové T buňky neboli regulační T – lymfocyty. Potlačují aktivitu cytotoxickým a pomocným T – lymfocytům. Tím zabraňují nadměrné imunitní reakci a napadení vlastních tkání (Reece, 2011).

Toman et al. (2000) se domnívají, že u psů se podíl T - lymfocytů v průběhu života zásadně nemění.

B – lymfocyty

U savců krátce před nebo po narození jsou játra, slezina a kostní dřeň plodu místy diferenciaci kmenových buněk. Byly poprvé objeveny u ptáků, kde prodělávaly diferenciaci ve Fabriciově burze. Podle místa objevu se označují jako B – lymfocyty. Při působení antigenu v organismu se začnou aktivované buňky množit a přeměňovat na plazmatické buňky a malý počet supresorových buněk (mají podobnou funkci jako supresorové T buňky). Plazmatické buňky produkují mnoho protilátek (gamaglobuliny) proti cizorodým látkám. Protilátky s cizorodými látkami reagují a inaktivují je. Díky tomu B - lymfocyty neútočí přímo na cizorodé látky. Tento typ imunity se nazývá humorální imunita (Reece, 2011). Toman et al. (2000)

uvádí, že u psů do tří měsíců věku B - lymfocyty tvoří okolo 40 % ze všech lymfocytů. Počet B - lymfocytů poté klesá a ve věku přibližně půl roku tvoří 15 – 20 %.

3.2.2.2 Pomocné buňky

Pomocné buňky jsou červené krvinky, krevní destičky, epitelové či endotelové buňky. Tyto buňky se podílejí na některých zvláštních funkcích, vyrábějí cytokiny nebo jiné mediátory. Některé jejich aktivity usnadňují realizaci funkce buňkám imunitního systému (Ferečík et al., 2005).

3.2.3 Kompleťované reakce

Kompleťované reakce jsou součástí humorální imunity, zahrnující soubor postupně aktivujících enzymů. Jedna z reakcí je opsonizace. Při této reakci jsou obaleny cizorodé částice složkami komplementu (protilátkami). To ulehčuje rozpoznání cizích částic. Další z reakcí je například chemotaxe. Produkt komplementového systému přitahuje neutrofilů a makrofágy do oblasti antigenu (Reece, 2011).

3.2.4 Lymfatické orgány

Lymfatické orgány se dělí na primární a sekundární. V primárních lymfatických orgánech probíhá diferenciací lymfocytů. Sekundární lymfatické orgány jsou místa se specifickou imunitní odpovědí (Toman et al., 2000).

3.2.4.1 Primární lymfatické orgány

Primární lymfatické orgány jsou místa, kde dochází ke vzniku a vývoji bílých krvinek (Dylevský, 2006).

Thymus – brzlík

Thymus je centrální lymfatický orgán. Tvoří pyramidové laloky, které leží před průdušnicí a jsou kryty svaly jazyky. V průběhu života se mění poloha brzlíku, dále také vztahy k ostatním strukturám a i jeho vlastní struktura. Jeho velikost se postupem věku zmenšuje. Brzlík je pokryt jemnou vazivovou blánou. Od této blány odstupují drobné přepážky, které rozdělují tkáň na malé lalůčky. Tyto lalůčky se skládají z periferní kůry a z centrální dřene. Síť hvězdicovitých buněk tvoří základ jak pro kůru, tak pro dřeň. Tato síť z hvězdicovitých buněk tvoří nosný skelet pro takzvané volné buňky. T - lymfocyty tvoří volné thymové buňky (Dylevský, 2006).

Funkce brzlíku

Thymus vytváří vhodné prostředí pro zrod T - lymfocytů, které se v něm vyvíjejí. Koriguje i jejich počet v oběhu. Brzlík dočasně izoluje vyvíjející se T - lymfocyty od ostatního organismu. Tato izolace je podmínkou pro jejich diferenciaci. Bariéra je vytvořena speciální stavbou stěny cév v kůře thymu. Stěna chrání T - lymfocyty tím, že nepropouští antigeny ze zmiňovaných cév. Z brzlíku poté T - lymfocyty odcházejí do různých tkání, kde se dále přeměňují na speciální buněčné typy. Zde je také produkce několika růstových faktorů pro stimulaci T - lymfocytů, jsou to například: thymolin, thymozin, thymopoetin. Tyto faktory zřejmě vytvářejí buňky, které tvoří skelet brzlíku. Jeho stavba i funkce souvisí s jeho schopností rozpoznat, co je organismu vlastní a co naopak cizí (Dylevský, 2006).

Kostní dřeň

Kostní dřeň je nejdůležitějším místem pro zrání B - lymfocytů a hlavním sídlem postnatální krevtvorby. Zde se tvoří B - lymfocyty z prekurzorů, které jsou řízeny řadou transkripčních faktorů. O rozhodnutí, zda se přemění B - lymfocyt na plazmatickou buňku nebo paměťovou B buňku, se postará aktivace koncentrace transkripčního faktoru a specifického aktivátorového proteinu B buňky. Po dozrání se B - lymfocyty dostávají do sekundárních plazmatických orgánů. Zde při setkání se svým antigenem vytvoří klon protilátkotvorných buněk (Toman et al., 2000).

3.2.4.2 Sekundární lymfatické orgány

Sekundární lymfatické orgány se rozdělují na opouzdřené lymfatické orgány a neopouzdřené lymfatické orgány. Opouzdřené lymfatické orgány jsou lymfatické uzliny a slezina. Neopouzdřené lymfatické orgány tvoří lymfoidní tkáň spojenou se sliznicí. Lymfatické orgány se podílí především na místní imunitě (Ferenčík et al., 2005).

Slezina

Slezina je uložena v levé brániční klenbě (Dylevský, 2006). Tvar sleziny je oválný a protáhlý. Ventrálně se rozšiřuje. Barva sleziny u psa je světle červená (Najbrt, 1982). Je to zásobárna krve pro tělo. Slezina je upevněna na závěsech, které jsou tvořeny tenkou orgánovou pobřišnicí, která zároveň také pokrývá povrch sleziny. Vazivové trámce, které odstupují od pouzdra, rozdělují vnitřní prostor sleziny na mnoho dutin, které připomínají mycí houby. Prostory naplňuje červená a bílá pulpa houbovitého tvaru. Červená pulpa se skládá z tenkostěnných a širokých kapilár poškozených i nepoškozených erytrocytů a z různých typů bílých krvinek. Bílá pulpa tvoří uzlíky lymfocytů, plazmatických buněk a dalších typů bílých krvinek. Ve středu toho vedou drobné větve slezinné tepny (Dylevský, 2006).

Funkce sleziny

Jedna z funkcí sleziny je vznik lymfocytů a červených krvinek u plodu. Slezina je důležitou zásobárnou červených krvinek a krevních destiček. Bílá pulpa dokáže okamžitě nastartovat imunitní odpověď organismu a v neposlední řadě ve slezině probíhá rozklad starých a poškozených červených krvinek (Dylevský, 2006).

Mízní uzliny

Mízní uzliny mají oválný tvar a různou velikost. Jsou uloženy v průběhu mízních cév. Uvnitř mízních uzlin jsou shluky lymfocytů, které mohou vytvářet protilátky nebo tam fungují jako podpora lymfocytům produkujícím protilátky. Lymfocyty s protilátkami se dostávají do krve, s kterou pak kolují organismem. Mízní uzliny obsahují také makrofágy, které fagocytují cizorodé částice z procházející mízy. Různé infekce a záněty způsobují zvětšení mízních uzlin, protože mízní uzliny fungují jako filtr a antigen stimuluje tvoření většího počtu lymfocytů. I

rakovinotvorné buňky jsou zanášeny do mízních uzlin, kde se zachycují, poté množí a pronikají do dalších uzlin v mízní soustavě (Reece, 2011).

3.2.5 Epiteliální bariéry

Epiteliální bariéry jsou integrální součástí imunitního systému. Epiteliální bariéry se od lymfatických tkání liší jak lokalizací, tak morfologickým uspořádáním i specifickým zastoupením jednotlivých buněčných subpopulací (Toman et al., 2000).

3.2.5.1 Mízní tkáň sliznic

Mízní tkáň sliznic tvoří izolovaná, splývající skupina mízních uzlíků ve sliznici a podslizničním vaku. Nejmhutnější je mízní tkáň v trávicím a dýchacím systému, kde se nejvíce setkává organismus s vnějším prostředím. Mandle spadají pod mízní tkáň sliznic trávicího systému. Stavba a funkce mízních tkání sliznic jsou stejné jako stavba a funkce mízní uzliny. B - lymfocyty jsou obsaženy v mízních uzlíkách a T - lymfocyty na jejich okraji. Uzlíky na rozdíl od mízních uzlin dokáží reagovat na antigen přítomný přímo na povrchu sliznice. Lymfocyty z mízní tkáň sliznic buď migrují do krevního oběhu, nebo se pohybují i usazují v okolních tkáních (Dylevský, 2005).

3.2.5.2 Gastrointestinální systém

Ochrana zažívací soustavy patří k nekomplexnějším imunitním útvarům těla, jelikož komunikuje plochou několika set metrů čtverečních s vnějším prostředím. V dutině ústní jsou slinné žlázy, které produkují velké množství IgA protilátek, dále se zde nachází imunitní struktury, které chrání chrup. Je to zubní parodontální membrána, která připojuje gingivu (dásněň). Imunitní buňky brání vstupu mikroorganismů, které se množí v zubním plaku. Vrstevnatým dlaždicovým epitelem je chráněn jícen. Obsahuje dentritické buňky, nazývané Langerhansovy. V žaludku je více imunitních buněk v jeho neseekretorické části. Jeho sliznice nemá vlastní organizovanou lymfatickou tkáň. Žaludek tvoří kyselé prostředí, proto je zde málo mikroorganismů. Ve střevě se objevuje mnoho mikroorganismů, a proto je střevo chráněno imunitním aparátem – lymfatické folikuly, Peyerovy plaky a mezenteriální uzliny. Hlavní

imunitní buňky tu jsou: lymfocyty, plazmatické buňky, makrofágy, žírné buňky a granulocyty (Toman et al., 2000).

3.2.5.3 Respirační systém

Dýchací soustava má vlastní imunitní výbavu. Respirační systém čistí vzduch od mikroorganismů a antigenů biogenního původu. Nosní dutina je vstupní částí do dýchacích cest; zde ve vnitřních nozdrách (choanách) se vdechnutý vzduch čistí od mechanických částic. Bronchy opatřené řasinkami, které fungují jako mukociliární eskalátor, vynášejí částice do horní části respiračního traktu. Se sliznicí bronchů je spojena organizovaná lymfatická tkáň dýchacích cest. Zde se nachází velký počet druhů buněk imunitního systému. Například zde jsou: eozinofily, makrofágy, lymfocyty. Buňky plicních sklípků pokrývá surfaktant (povrchově aktivní látka, snižující povrchové napětí). Díky němu plicní sklípky při výdechu nezkolabují. V surfaktantu jsou obsaženy IgA protilátky tvořené plicními B buňkami a dále složky komponentu (Toman et al., 2000).

3.2.5.4 Reprodukční systém

Samičí trakt

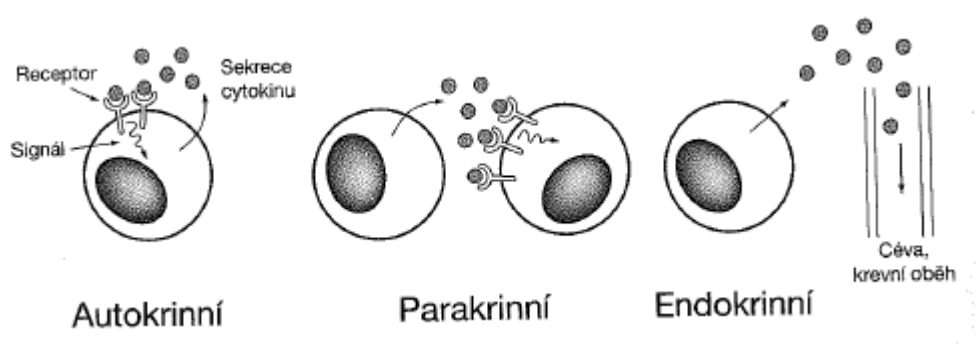
V celém průběhu reprodukčního traktu zahrnuje sliznice roztroušené lymfocyty a makrofágy. V děložní sliznici a krčku je jejich zastoupení největší. Endometrium dělohy zahrnuje mnoho shluků lymfocytů i roztroušené makrofágy, neutrofilů, eozinofily, žírné a dentritické buňky. V děložním krčku jsou obsaženy plazmatické buňky, hlavně B buňky, které produkují sekreční IgA. Poševní epitel je těžko prostupný pro mikroorganismy, jeho dlaždicový epitel má v sobě dentritické Langerhansovy buňky (Toman et al., 2000).

Samčí trakt

Ve varlatech chrání bariéra Sertoliho buněk semenné buňky. Makrofágy představují v intersticiu ochrannou složku varlat. V ejakulátu jsou obsaženy lymfocyty a makrofágy (Toman et al., 2000).

3.2.6 Látkové regulační faktory

Cytokiny jsou účinné regulační látky, uvolňující se hlavně z buněk imunitního systému. Cytokiny působí neenzymově v nízkých koncentracích pomocí specifických receptorů. Jejich hlavní funkce je regulace směru, rozsahu a délky trvání imunitních reakcí. Výsledek působení cytokinů nezáleží jen na koncentraci či typu buňky na níž působí, ale také na přítomnosti jiných cytokinů, protože se mohou vzájemně překrývat. Mohou mít buď vzájemně zesilující, nebo naopak oslabující účinky. Cytokiny vytvářejí síť, v níž ovlivňuje aktivitu každého z nich menší či větší soubor cytokinů (Ferenčík et al., 2005). Cytokiny působí autokrinně. To znamená, že působí na buňku, která je produkuje. Parakrinní působení cytokinů je působení na buňku v těsné blízkosti. Cytokiny jsou transportovány krevním řečištěm a působí na vzdálené tkáně (endokrinní působení) (Hořejší et al., 2009).



Obr. 1 Schématické znázornění autokrinního, parakrinního a endokrinního působení cytokinů (Hořejší et al., 2009).

Cytokiny se dělí do více skupin podle své funkce, podle typu buněk, které je uvolňují, a také podle buněk, na které působí:

Interleukiny – regulují imunitní reakce, stimulují faktor kmenových buněk, regulují růst, vývojové rozlišení a aktivaci lymfocytů.

Lymfokiny – aktivují makrofágy.

Tumor nekrotizující faktor – reguluje záněty, protinádorové účinky. Pokud je ve vyšší koncentraci, vyvolává horečky a chorobné hubnutí.

Interferony – antivirové účinky, regulace imunitní reakce.

Faktory stimuluující kolonie – regulace proliferace, dozrávání a aktivitu krevních buněk.

Transformující růstové faktory – regulace embryonálního vývoje.

Stresové proteiny – proteiny tepelného šoku.

Chemokiny – takzvané chemotaktické cytokiny, které stimulují chemotaxi buněk imunitního systému (Ferenčík et al., 2005).

3.2.7 Specifická imunita

Specifická imunita účinkuje rychle a přesně. Její mechanismy jsou vybaveny imunologickou pamětí. Výkonná buňka specifické imunity se nazývá lymfocyt. Lymfocyt je vybaven receptory pro rozpoznání antigenu. Imunokompetence je základ specifické imunity (Mourek, 2005).

3.2.7.1 Specifické obranné reakce

Specifická obranná reakce má funkci poznávat vlastní struktury od cizích. Například podle úpravy molekul na povrchu buněk. Tato odezva závisí na setkání organismu s cizím materiálem a zapamatování si ho. Aktivní účastníci této reakce jsou lymfocyty a protilátky. Lymfoidní tkáň těla, jako jsou například mízní uzliny, mízní tkáň stěny orgánů, mandle a brzlík, jsou anatomickým základem těchto obranných reakcí (Dylevský., 2006).

3.2.7.2 Imunoglobuliny

Imunoglobuliny jsou nositelé protilátkové aktivity. Tvorba protilátek je jedna ze základních funkcí imunitního systému. Imunoglobuliny jsou produkovány B - lymfocyty, nejvíce plazmatickými buňkami. Tyto buňky jsou závěrečným stádiem jejich vývoje. Imunoglobuliny se od sebe liší molekulovou hmotností, elektrickým nábojem, složením aminokyselin i velikostí cukerné složky. Imunoglobuliny se dělí do pěti tříd: IgG, IgM, IgA, IgE, IgD.

Biologická funkce imunoglobulinů

Imunoglobuliny mají dvě základní funkce, a to rozpoznávací a efektorovou. Rozpoznávací funkce prostřednictvím vazebného místa je ve specifické vazbě s cizorodým antigenem. Efektorová funkce má za úkol eliminovat cizorodý antigen z organismu (Toman et al., 2000).

Vlastnosti jednotlivých tříd imunoglobulinů:

IgG - několik podtříd

- tvorba je hlavně při opakované imunizaci
- množství přísně reguluje katabolismus
- u primátů a šelem zajišťuje obranu plodu prostupem placentou
- obaluje mikroorganismy a buňky určené k fagocytóze
- tvoří okolo 80 % sérového imunoglobulinu

IgM - největší tvorba je po prvním styku s antigenem

- snadno aktivuje komplement
- tvoří v séru asi 10 % imunoglobulinu

IgA - tvoří 1 – 10 % sérového imunoglobulinu

- chrání sliznice před mikroorganismy (sliny, slzy, střevní hlen)
- usnadňuje jejich eliminaci, zabraňuje jejich adhezi

IgE - u zdravých jedinců se nachází v nepatrném množství sérového imunoglobulinu

- při alergických chorobách se jeho množství zvyšuje
- při dostatečné intenzitě dochází k alergické reakci

IgD - umístěny na povrchu embryonálních lymfocytů (Toman et al., 2000).

3.2.8 Nespecifická imunita

Nespecifická imunita neboli vrozená je schopná rychlé reakce proti cizorodým látkám a mikroorganismům. Pod nespecifickou imunitu spadá celistvost kůže, sliznice, také ji tvoří i sekrety slizničních žlázek, jako je hlen, sliny, slzy a kožní maz. Toto vše v sobě obsahuje baktericidní látky, jako je například lysozym. Hlavní funkcí vrozené imunity je fagocytóza (pohlcování pevných částic buňkami) mikroorganismů, funkce přirozených zabíječů a účinek komplementu (Mourek, 2005).

3.2.8.1 Nespecifické obranné reakce

Nespecifická obranná reakce je geneticky daná odolnost organismu proti původcům některých onemocnění a cizím buňkám. Aktivními účastníky nespecifických reakcí jsou fagocytující buňky (monocyty, eozinofilní leukocyty a další). RES systém (retikuloendotelový systém je stará podoba názvu monocyto-makrofágový systém) je anatomickým základem nespecifických obranných reakcí. Je to systém buněk společné vlastnosti, ale různých typů. Společná vlastnost těchto buněk je fagocytóza (Dylevský, 2006).

3.2.9 Komplement

Komplement je nejrozsáhlejší realizátor imunitního systému, produkuje tři desítky membránových a sérových proteinů. Tyto proteiny jsou schopny zabít mikroorganismy. Komplement spojuje vrozenou a specifickou imunitu. Deset kontrolních proteinů, inhibujících jednotlivé aktivační stupně, ochraňuje před nadměrnou aktivací. Tyto blokátory dokáží ochraňovat vlastní buňky před komplementovanou cytotoxicitou. Imunitní buňky vlastní specifické receptory, vlastní složku komplementu nebo jejich fragmenty (Toman et al., 2000).

3.2.9.1 Biologická role komplementu

Komplement je tvořen proteinovými molekulami, které se vyskytují v neaktivním stavu v krvi a tělních tekutinách. Při jeho aktivaci dochází k takzvanému kaskádovému sledu, kdy jednotlivé složky mají na sebe vliv ve stálém pořadí. Uvedení do činnosti jedné složky je

závislé na aktivitě složky před ní. Většina z prvních pěti komponentů má i další funkci, aktivují další obranné systémy. Pomocí kontrolních proteinů se rozlišuje vlastní a cizí buňky. Cizí buňky většinou nemají kontrolní protein, a proto mohou být komplementem lyzovány (Toman et al., 2000).

3.3 Dědičná neutropénie

3.3.1 Dědičné onemocnění

Dědičné onemocnění je nemoc, která vzniká změnou DNA neboli mutací v buňkách zárodečné linie. U postižených jedinců se přenáší prostřednictvím gamet z generace na generaci. Tato mutace může způsobit smrt jedince (embryonální mortalitu, potrat), a to když se projeví ještě před narozením. Změna DNA může vyvolávat i trvalé poškození, s kterým se jedinec narodí (vrozené nebo kongenitální dědičné onemocnění). Na druhou stranu nemusí být výše zmíněné projevy způsobeny vždy geneticky, jelikož k prenatalnímu poškození vyvíjejícího se jedince může dojít i z jiných příčin. Ne všechny choroby jsou současně kongenitální, poněvadž mutace se může projevovat i později po narození (Svoboda et al., 2000).

3.3.2 Autozomální recesivní nemoci

Je více než 400 geneticky odlišných plemen psů, které se liší morfologií i chováním. Plemena psů se dělí do dvou hlavních skupin. První skupina byla domestikována z vlka před 15000 lety. Druhá skupina byla vyšlechtěna z moderních ras během několika stovek let. Pro vyšlechtění moderních ras se vybírali jedinci určitých fyzických a charakterových vlastností. Taková zásadní selekce ústí u těchto plemen v omezenou genetickou variabilitu a z toho plynoucí vyšší výskyt dědičných onemocnění. Dědičná onemocnění jsou zejména recesivní. Dědičné onemocnění obvykle vykazuje alelickou homogenitu u jednotlivého plemene či plemen si podobných a alelickou heterogenitu u méně příbuzných plemen (Svoboda et al., 2000).

Mutací vzniklá alela, uložená na nepohlavních chromozomech nazývaných autozomy, se ve spojení s původní zdravou alelou chová jako recesivní. To znamená, že se neprojeví. Jedinec s oběma stejnými alelami se nazývá homozygot. Homozygoti mohou být pohlaví samčího i samičího, jelikož umístění genu je na nepohlavních chromozomech, v nichž se obě pohlaví neliší. Jedinec homozygotní je klinicky i geneticky zdravý, pokud má alely nezmutované, protože do všech svých pohlavních buněk předává identické alely. Je-li jedinec homozygotní pro alely mutantní, jeho genetické založení je defektní. Tento jedinec se dá bez problému identifikovat a eliminovat z chovu. Heterozygot je jedinec s jednou alelou zdravou a druhou mutantní. Fenotypově se toto onemocnění neprojeví. Zdravá alela je dominantní nad alelou

mutantní, tudíž její znaky pro nemoc potlačí. Heterozygot je neodlišitelný od dominantního homozygota (nositelů dvou zdravých alel), jelikož je klinicky zdrav. Nebezpečí jeho výskytu v chovu je v tom, že do poloviny svých gamet předává zmutovanou alelu, která se při spojení s dalším heterozygotem kombinuje s další zmutovanou alelou a dávají společně vznik klinicky poškozeným homozygotům (recesivním) (Svoboda et al., 2000).

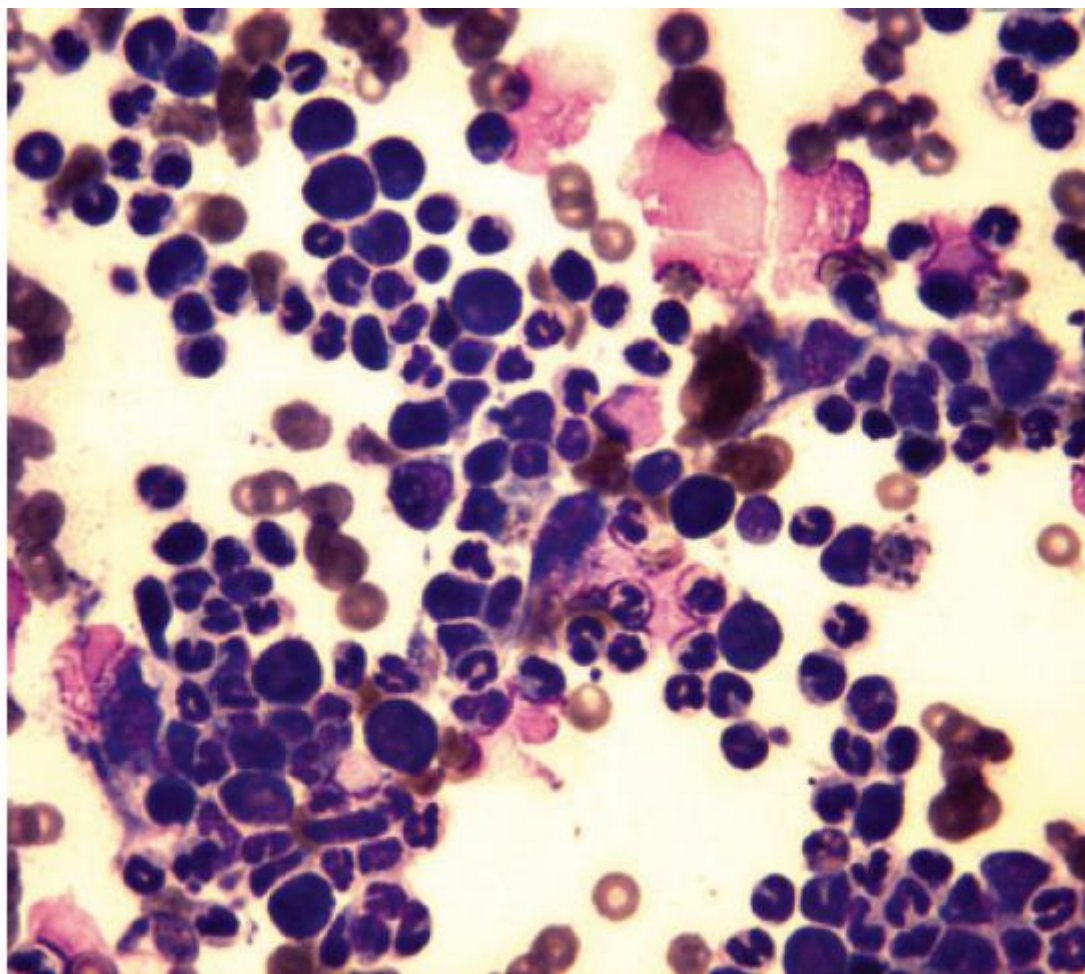
3.3.3 Dědičná neutropénie

TNS (dědičná neutropénie) se v angličtině nazývá Trapped Neutrophil Syndrom. V češtině se pro tuto nemoc používá název dědičná neutropénie (BCCCZ, 2016).

Dědičná neutropénie je autozomální recesivní zděděná choroba, která byla poprvé identifikovaná u border kolií v Austrálii a na Novém Zélandě v 90. letech. TNS je charakterizována značným nedostatkem počtu neutrofilů v krvi a hyperplázií myelinových buněk v kostní dřeni (Mizukami et al., 2013).

Při TNS je poškozena funkce neutrofilů. V českém ekvivalentu zkratky TNS je zahrnut výraz neutropénie. Neutropénie znamená snížený počet neutrofilů pod normální hodnotu. Snížení počtu neutrofilů je spojeno se zvýšeným rizikem infekce. Při dědičné neutropénii nemohou být neutrofilové, vytvářející se v kostní dřeni, uvolněny do krevního oběhu. Jsou uvězněny (viz anglický výraz trapped) v kostní dřeni a díky tomu se nemocný jedinec nemůže bránit infekci (BCCCZ, 2016).

Autozomální recesivní choroba TNS je často vyskytující se nemocí u Border kolií. Všechny případy této choroby se zdají být odvozeny od případu jedné mutace, jelikož všechny tyto případy mají stejného předka v rodokmenu v minulých šesti generacích (Shearman et al., 2006). V roce 2011 bylo doloženo, že mutace TNS u border kolií vzniká vymazáním 4 páru v axonu 19 v psím VPS13B genu (Mizukami et al., 2013).



Obr. 2 Mikroskopické znázornění kostní dřeně u jedince postiženého TNS (Mason et al., 2013).

3.3.3.1 Gen VPS13B

Genový produkt VPS13B je potenciální transmembránový protein. Do dnešní doby jeho funkce i spojitost se zadržením neutrofilů v kostní dřeni nebyla zjištěna. U psů trpících mutací byla zjištěna delece dvojice čtvrté báze axonu 19 v psím VPS13 genu, který má za následek předčasné zkrácení proteinu (Mason et al., 2013).

3.3.3.2 Příznaky TNS

Pro psy postižené TNS jsou typické symptomy: horečka, otoky kloubů, anorexie a zvracení (Mizukami et al., 2012). Obličej postižených jedinců vykazuje typický tvar podobající se fretce. Vývoj postiženého psa je celkově zpomalený. Nakažená štěňata jsou často menšího věku než

jejich sourozenci, trpí chronickými infekcemi, špatně prospívají a selhává jim imunitní systém. Infekce se projevuje u některých jedinců již od šesti týdnů věku. U ostatních se okolo 12 - ti týdnů věku projeví špatná reakce na vakcinaci (Shearman et al., 2011). Psi umírají většinou v mladém věku na těžkou neutropénií (Mizukami et al., 2013).



Obr. 3 Postižený jedinec (malé tělo, obličej vypadající jako fretka) (Mason et al., 2013).

3.3.3.3 Dědičnost TNS

U border kolií dochází k častému křížení mezi příbuznými jedinci (inbreeding). Tím se zvyšuje riziko nadměrného počtu onemocnění geneticky založených. Shaerman and Wilton (2007) uvádí, že psi postižení TNS byli vysoce inbrední (až 7 generací na obě strany). V současnosti se vyskytuje mezi border koliemi hodně přenašečů. Frekvence mutované alely je v průměru 0,064 (Genomia, 2016). To znamená, že v populaci se vyskytuje 6,4 % recesivních alel (Kočárek, 2008).

U testu na TNS se označují jedinci :

normal /clear- jedinec - zdravý jak geneticky, tak fenotypově (dominantní homozygot)

přenašeč/ carrier - jedinec zdravý pouze fenotypově (heterozygot)

postižený/affected - nemocný jedinec (recesivní homozygot)

(BCCCZ, 2016).

V následující tabulce jsou uvedené výsledky z chovu psů každého genetického stavu. Je důležité nekrýt dva psy přenašeče, protože by mohlo být průměrně ohroženo 25 % mláďat. Vždy by měl být aspoň jeden z rodičů zdravý jak fenotypově, tak i geneticky (dominantní homozygot).

Očekávané výsledky pro chovné strategie s využitím testu Optigen mutace pro Trapped Neutrofilů syndrom (TNS)			
Rodič 1 genotyp	Rodič 2 genotyp		
	Normal / Clear	Přenašeč	Postižený
Normal / Clear	Všechny = Normal / Clear	Polovina = Normal / Clear polovina = Carrier	Vše = Carrier
Přenašeč	Polovice = normální polovice = Carrier	1/4 = normální / Clear poloviny = Carrier 1/4 = postižený	Jedna polovina = Carrier jedna polovina = postižený
Postižený	Vše = Carrier	Jedna polovina = Carrier jedna polovina = postižený	Všechny = postižený

Tabulka č. 1. Očekávané výsledky chovné strategie (Optigen, 2016).

3.3.3.4 DNA testy na TNS

DNA test je prováděn z plné krve odebrané na EDTA (plná necentrifugovaná krev odebraná do zkumavky s EDTA - organická sloučenina kyselina ethylendiamintetraoctová), buklálními stěry nebo pomocí PCR (Laboklin, 2016).

3.3.3.5 Výskyt TNS ve světě a ČR

Počátkem roku 2007 byl Jeremym Shearmanem identifikován genetický defekt, který je příčinou onemocnění TNS. Byl vyvinut jednoduchý test DNA k identifikaci nosičů onemocnění. Pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) je několikanásobně zvýšeno množství DNA získané ze vzorku krve nebo ústní dutiny. Použití testu ukázalo, že nemoc TNS je u plemene border kolie široce rozšířena (BCCCCZ, 2016).

TNS výsledky testování mutace od 1.1.2007 do 15.9.2008 pro dospělé border kolie podle výskytu v různých zemích.

Kraj	TNS Clear	TNS Carrier	TNS chybu	Podíl nosičů *
Austrálie	355	70	1	16.7 %
NZ	36	4	1	12.2 %
Spojené království	616	156	1	20,3 %
Spojené státy americké	205	89	0	30,3 %
Japonsko	39	9	0	18,8 %
Evropa	679	169	3	20.2 %
Skandinávie	159	34	1	18.0 %
Celkový	2.089	531	7	20.2 %

Tabulka č. 2. Rozšířenost dědičné neutropénie u border kolie (BCCCCZ, 2016).

V České republice se u border kolií vyskytuje TNS od doby, kdy byl přivezen první blue merle pes. Tento pes byl TNS Carrier. Poté se uskutečnilo krytí v zahraničí a také byl dovezen další pes. U všech těchto jedinců bylo později prokázáno, že jsou TNS přenašeči (BCCCCZ, 2016).

Od roku 2007 je možno používat první verzi DNA testu na dědičnou neutropénii. Ze začátku byl test dostupný jen pro jedince z linií zatížených touto nemocí. Později téhož roku byl test

upřesněn. Díky tomu je k dispozici pro všechny border kolie a je jedno, z jaké linie pocházejí. Testy na dědičnou neutropénii se dají udělat v laboratořích: Laboklin, Genomia a Optigen (BCCCCZ, 2016).

3.3.4 TNS a Cohenův syndrom

3.3.4.1 Cohenův syndrom

Cohenův syndrom je vzácná autozomálně recesivní choroba (Limoge et al., 2015). Je způsobena mutací genu VPS13B (u lidí se tento gen označuje COH1) (Seifert et al., 2015). Cohenův syndrom je vzácný (asi 190 pacientů na světě). Vykazuje homogenní fenotyp. Diagnóza Cohenova syndromu je založena na přítomnosti alespoň šesti hlavních klinických příznaků: zpožděný vývoj, mikrocefalie, typický tvar obličeje pro Cohenův syndrom, obezita trupu s extrémně hubenými končetinami, přehnaně společenské chování, kloubní hypermobilita, silná krátkozrakost, dystrofie sítnice a neutropenie (Shearman et al., 2011).

3.3.4.2 Podobnost TNS s Cohenovým syndromem

Shearman et al. (2006) tvrdí, že TNS u border kolie je způsoben mutací v tom samém genu, který způsobuje Cohenův syndrom u lidí, VPS13B. Bylo nalezeno více než 80 mutací v lidském genu VPS13B, všechny vedoucí ke Cohenově fenotypu. Vysoce konzervativní povaha genu VPS13B vede k domněnce, že mutace objevená u psí verze tohoto genu může způsobovat podobné klinické příznaky jako ty zjištěné u lidí. Velká podobnost v klinických projevech Cohenova syndromu a TNS dokazuje, že VPS13B je totožný gen jako u TNS. Nenašly se žádné zprávy o mutaci tohoto genu v jiných organismech, což činí z TNS ve psech první případ Kohenova syndromu.

U border kolie je možné pozorovat zpožděný tělesný vývoj, typický pro onemocnění TNS je tvar obličejové části. Končetiny zvířete jsou extrémně hubené. V krevním obraze je při mikroskopickém vyšetření zjištěna neutropénie. Tyto příznaky jsou shodné s těmi, které jsou zjišťovány u člověka při onemocnění Cohenovým syndromem (Shearman et al., 2011).

4 Závěr

Bakalářská práce shrnuje poznatky týkající se dědičného autozomálně recesivního onemocnění postihujícího border kolie - dědičná neutropénii (TNS). Podstatou onemocnění je selhání imunitního systému, jehož důsledkem je úhyn postižených jedinců.

Jedná se o narušení funkce neutrofilů – nejpočetnější skupiny bílých krvinek. Neutrofilů se z kostní dřeně, kde se tvoří, nevyplavují do krevního řečiště. Postižený jedinec se tak stává vysoce vnímavým k různým infekcím.

První příznaky onemocnění se vyskytují u štěňat již krátce po narození a ta většinou během několika měsíců chorobě podléhají.

Od počátku roku 2007 lze provádět genetické testování na TNS. Jsou tak odhaleni jedinci klinicky zdraví (dominantní homozygoté) a také i jedinci, kteří jsou klinicky zdraví, ale zároveň jsou skrytými přenašeči onemocnění (heterozygoti) v populaci border kolií. Na základě výsledků testu je možné sestavit chovný pár tak, aby bylo vyloučeno riziko narození nemocných štěňat.

Od 1.1. 2012 je u BCC CZ (Border Collie Club Czech Republic) vyšetření u border kolií povinné - alespoň jeden z rodičů plánovaného vrhu by měl mít výsledek testu na TNS negativní, tedy TNS DNA Normal. Testování musí být provedeno v akreditované laboratoři (Laboklin, Genomia a Optigen).

Předpokladem pro úspěšný chov je získání zvířete od zodpovědného chovatele.

5 Seznam literatury

Dylevský, I. 2006. Lymfa: míza. Poznání. Olomouc. 109 s. ISBN: 80-866-0642-2.

Ferenčík, M. 2005. Imunitní systém: informace pro každého. Vyd. 1. české. Grada. Praha. 236 s. ISBN: 80-247-1196-6.

Ganong, W. F. 2005. Přehled lékařské fyziologie. Galén. Praha. 890 s. ISBN: 80-726-2311-7.

Hořejší, V., Bartůňková, J. 2009. Základy imunologie. Triton. Praha. 316 s. ISBN: 978-80-7387-280-9.

Chmelíková, E., Petr, J. 2006. Fakta o onemocnění CEA. Borderholic. 20 (1). 8-9.

Chmelíková, E., Petr, J., Sedmíková, M., Härtlová, H. 2007. Co je to TNS?. Borderholic. 23 (2). 3-5.

Kočárek, E. 2008. Genetika. Scientia. Praha. 211s. ISBN: 80-7183-326-6.

Krejčí, M. 2001. Dysplazie kyčelního kloubu u psů. Borderholic. 8 (1). 8-9.

Limoge, F., Faivre, L., Gautier, T., Petit, J. M., Gautier, E., Masson, D., Jego, G., El Chehadeh-Djebbar, S., Marle, N., Carmignac, V., Deckert, V., Brindisi, M. C., Edery, P., Ghoumid, J., Blair, E., Lagrost, L., Thauvin-Robinet, C., Duplomb, L. 2015. Insulin response dysregulation explains abnormal fat storage and increased risk of diabetes mellitus type 2 in Cohen Syndrome. Human Molecular Genetics. 24 (23). 6603-6613.

Mason, S. L., Jepson, R., Maltman, M., Batchelor, D. J. 2014. Presentation and management of trapped neutrophil syndrome (TNS) in UK border collies. *Journal of small animal practice*. 55 (1). 57-60.

Mizukami, K., Shoubudani, T., Nishimoto, S., Kawamura, R., Yabuki, A., Yamato, O. 2012. Trapped neutrophil syndrome in a border collie dog: clinical, clinico-pathologic, and molecular findings. *Journal of veterinary medical science*. 74 (6). 797-800.

Mizukami, K., Yabuki, A., Kawamichi, T., Chang, H., Rahman, M. M., Uddin, M. M., Kohyama, M., Yamato, O. 2013. Real-time PCR genotyping assay for canine trapped neutrophil syndrome and high frequency of the mutant allele in border collies. *The veterinary journal*. 195 (2). 260-261.

Mourek, J. 2005. *Fyziologie: učebnice pro studenty zdravotnických oborů*. Grada. Praha. 208 s. ISBN: 978-802-4711-904.

Najbrt, R. (eds.). 1982. *Veterinární anatomie 2*. SZN. Praha. 596 s. ISBN: 0700682.

Reece, W. O. 2011. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. 2., rozšířené vydání*. Grada. Praha. 473 s. ISBN: 978-80-247-3282-4.

Seifert, W., Kühnisch, J., Maritzen, T., Lommatzsch, S., Hennies, H. C., Bachmann, S., Horn, D., Haucke, V. 2015. Cohen Syndrome-associated Protein COH1 Physically and Functionally Interacts with the Small GTPase RAB6 at the Golgi Complex and Directs Neurite Outgrowth. *Journal of Biological Chemistry*. 290 (6). 3349-3358.

Shearman, J. R., Wilton, A. N. 2007. BRIEF NOTES: Elimination of neutrophil elastase and adaptor protein complex 3 subunit genes as the cause of trapped neutrophil syndrome in Border collies. *Animal Genetics*. 38 (2). 188-189.

Shearman, J. R., Wilton, A. N. 2011. A canine model of Cohen syndrome: Trapped Neutrophil Syndrome. *BMC Genomics*. 12 (1). 258.

Shearman, J. R., Zhang, Q. Y., Wilton, A. N. 2006. Exclusion of CXCR4 as the cause of Trapped Neutrophil Syndrome in Border Collies using five microsatellites on canine chromosome 19. *Animal Genetics*. 37 (1). 72–89.

Svoboda, M., Senior, D. F., Doubek, J., Klimeš, J. 2008. *Nemoci psa a kočky*, 1. díl.. Noviko. Brno. 1152 s. ISBN: 978-80-86542-18-8.

Toman, M. 2000. *Veterinární imunologie*. Grada. Praha. 413 s. ISBN: 80-716-9727-3.

Trbolová, A. 2012. Nejčastější oční choroby u mladých psů - dědičné oční choroby. *Veterinářství*. 62 (11). 671-676.

Elektronické zdroje:

Optigen [online]. 2011. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <http://optigen.com/opt9_tns_test_for_bc.html>.

Genomia [online]. TNS - Trapped Neutrophil Syndrome. 2015. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <<http://www.genomia.cz/cz/test/tns>>.

Laboklin [online]. Syndrom uvíznutých neutrofilů - Trapped neutrophil syndrome (TNS). 2015. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <http://www.laboklin.de/pages/html/cz/Genetic/canine_disease/pes_tns.htm>.

Českomoravská kynologická unie [online]. Standard border kólie. 2009. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <<http://www.cmku.cz/index2.php?stranka=plemena>>.

Border Collie Club Czech Republic [online]. DĚDIČNÉ CHOROBY - TNS, CL, MDR1. 2015. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <http://www.bcccz.cz/chov_tns_cl_mdr.htm>.

Border Collie Club Czech Republic [online]. Chov BOC v ČR. 2015. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <<http://www.bcccz.cz/chov.htm>>.

Border Collie Club Czech Republic [online]. Historie a význam plemene. 2015. [cit. 2016-03-15]. Dostupné z <<http://www.bcccz.cz/oplemeni.htm>>.