OMÓWIENIE OBECNEGO STANU TESTÓW GENETYCZNYCH PSÓW

MATERIAŁ UAKTUALNIONY

OPRACOWANIE:

Liza Gershony, DVM, PhD i *Anita Oberbauer,* PhD
Uniwersytet Kalifornijski, Davis

REDAKCJA TEKSTU ORYGINALNEGO:

Leigh Anne Clark, PhD
Uniwersytet Clemson

PRZEKŁAD Z JĘZYKA ANGIELSKIEGO:

Krzysztof Kostyra

REDAKCJA NAUKOWA PRZEKŁADU:

prof. dr hab. Marek Świtoński
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,
Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach,
Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

Lipiec 2020 r.
[polskie tłumaczenie: październik 2023 r.]

SPIS TREŚCI

Wprowadzenie . . . 3
- Omówienie obecnego stanu testów genetycznych – materiał uaktualniany . . . 3
- Bibliografia . . . 4

Wstęp . . . 4

Rozdział I. Podstawy . . . 5
- DNA i chromosomy . . . 5
- Podziały komórkowe i rozmnażanie płciowe . . . 6
- Cechy, geny i allele . . . 7
- Geny, sprzężenie i rekombinacja . . . 10

Rozdział II. Modele dziedziczenia . . . 11
- Dziedziczenie mendlowskie oraz szachownica Punnetta . . . 11
- Dziedziczenie niemendlowskie . . . 14

Rozdział III. Selekcja genetyczna i populacje . . . 18

Rozdział IV. Rasy psów jako populacje . . . 21

Rozdział V. Testy genetyczne psów . . . 23
- Testy bezpośrednie i pośrednie . . . 23
- Testy pojedyncze versus testy wielopanelowe . . . 24

Rozdział VI. Interpretacje wyników testów DNA . . . 26

Rozdział VII. Badanie różnorodności . . . 29

Rozdział VIII. Rasowo specyficzne testy genetyczne . . . 31

Rozdział IX. Zastosowanie testów genetycznych . . . 33

Rozdział X. Dostawcy testów genetycznych oraz nadzór nad testami genetycznymi . . . 36
- Dostawcy . . . 36
- Parametry testów . . . 37
- Nadzór . . . 37

Rozdział XI. Ostrożna interpretacja wyników . . . 39

Rozdział XII. Znaczenie testów genetycznych . . . 42

Rozdział XIII. Przyszłość testowania genetycznego . . . 43

Rozdział XIV. Uwagi końcowe . . . 45

Słownik pojęć . . . 46

Bibliografia . . . 50

WPROWADZENIE DO WYDANIA W JĘZYKU POLSKI

Omówienie obecnego stanu testów genetycznych – materiał uaktualniony

Pod koniec XX wieku podjęto intensywne badania budowy i funkcjonowania genomu, który definiuje się jako zestaw cząsteczek DNA obecnych w jądrze komórkowym i występujących w parach chromosomów – jeden w każdej parze jest dziedziczony od matki, a drugi od ojca. W 2001 r. na łamach prestiżowych czasopism naukowych „Nature" i „Science" opublikowano opis sekwencji nukleotydowej genomu człowieka, który wskazywał, że łączna długość cząsteczek DNA stanowiących haploidalną liczbę chromosomów (n = 23) wynosi ok. 3 mld par zasad, a przewidywana liczba genów kodujących białka wynosi ponad 20 tys. Wkrótce potem (2003 i 2005 r.) ukazały się w „Nature" publikacje, w których opisano genom psa. Ogólna długość cząsteczek DNA haploidalnego zestawu chromosomów psa (n = 39) okazała się krótsza (ok. 2,4 mld par zasad) niż w przypadku genomu człowieka. Również przewidywana liczba genów kodujących białka był nieco mniejsza (poniżej 20 tys.). Osiągnięcia te rozpoczęły erę szerokiego wykorzystania testów DNA w medycynie człowieka, medycynie weterynaryjnej i w hodowli psów. Początkowo w hodowli psów najpowszechniej stosowano testy DNA (tzw. markery mikrosatelitarne) służące weryfikacji pochodzenia danego osobnika po wskazanych rodzicach (*parentage testing*). Należy zaznaczyć, że laboratoria oferujące takie badania podlegają okresowej ocenie przez Międzynarodowe Towarzystwo Genetyki Zwierząt (*International Society for Animal Genetics*). Wkrótce po poznaniu sekwencji genomu psa nastąpiło masowe opracowywanie testów DNA umożliwiających precyzyjne diagnozowanie molekularne choroby dziedzicznej lub identyfikację zdrowych nosicieli chorobotwórczej mutacji.

W niniejszym opracowaniu w przystępny sposób omówiono wybrane informacje z zakresu genetyki molekularnej i zaprezentowano możliwości i zasady korzystania z testów DNA w hodowli i medycynie weterynaryjnej psów. Interesująco odniesiono się do problemów związanych z interpretacją wyników takich testów oraz efektów, jakie może spowodować pochopne podejmowanie decyzji o ich wykonaniu lub wdrażanie nieuzasadnionych działań hodowlanych po uzyskaniu wyniku takich badań. Rozważania te jednoznacznie wskazują, że konsultacja uzyskanych wyników ze specjalistami z zakresu genetyki, podobnie jak w przypadku medycyny człowieka, ma niejednokrotnie kluczowe znaczenie. Opracowanie to z pewnością będzie służyło pomocą lekarzom weterynarii, hodowcom i właścicielom psów w zrozumieniu złożonej problematyki stosowania testów DNA.

Wiedza o mutacjach wywołujących choroby dziedziczne lub odpowiedzialnych za cechy ważne z hodowlanego punktu widzenia (np. umaszczenie) różnych gatunków zwierząt, w tym psa, jest aktualizowana w dostępnej bez ograniczeń bazie OMIA – *Online Mendelian Inheritance in Animals* (https://www.omia.org/home/). W bazie znajduje się w tej chwili informacja o podłożu molekularnym ponad 350 chorób dziedzicznych lub cech hodowlanych psa. W przypadku innych gatunków zwierząt liczba ta jest znacznie mniejsza (np. nieco ponad 100 w przypadku kota). O zawartości tej bazy w odniesieniu do chorób psów ukazał się krótki artykuł w „Życiu Weterynaryjnym"[1].

Na marginesie należy wspomnieć, że w opracowaniu nie poruszono kwestii nieprawidłowości (mutacji) chromosomowych psów, które często odpowiadają za niepłodność nosicieli oraz zaburzenia rozwoju płci. Z przeglądem badań na ten temat można się zapoznać w niedawno opublikowanej

pracy przeglądowej[2]. Natomiast czytelnicy zainteresowani poszerzeniem wiedzy z zakresu genetyki weterynaryjnej mogą skorzystać z najnowszego podręcznika akademickiego[3].

prof. dr hab. Marek Świtoński

Bibliografia

1. Świtoński M., Loba W., *Diagnostyka molekularna chorób dziedzicznych psa we współczesnej weterynarii*, „Życie Weterynaryjne" 2021, 96(7): 488–491.
2. Szczerbal I., Świtonski M., *Clinical Cytogenetics of the Dog: A Review*, „Animals" 2021, 11, 947.
3. Świtoński M. (red.), *Genetyka ogólna i weterynaryjna*, Wydawnictwo Naukowe PWN S.A., Warszawa 2023.

WSTĘP

W ostatnim czasie testy genetyczne na określone cechy psów, a więc dotyczące charakterystyki fizycznej oraz chorób występujących u tego gatunku zwierząt, stają się coraz bardziej dostępne, co wpływa na poprawę zdrowia zarówno konkretnych osobników, jak i całej populacji. Właściciele i hodowcy psów już od dawna potrzebowali narzędzi genetycznych, które pozwoliłyby określić, czy u danego psa występują predyspozycje do jakiejś choroby genetycznej, i/lub podejmować decyzje dotyczące rozrodu, które wpłynęłyby na poprawę zdrowia przyszłych pokoleń. Choć rosnąca dostępność tych narzędzi jest imponująca, to jednak wyniki wielu badań genetycznych są trudne w interpretacji. Zrozumienie wyników badań genetycznych oraz ograniczeń stosowanych metod jest bardzo ważne i pozwala unikać ich niewłaściwego stosowania, które może prowadzić do niepotrzebnych zmartwień i wydatków związanych np. z diagnostyką kliniczną czy modyfikacją diety. Co więcej, niewłaściwe zrozumienie wyników badań genetycznych i wdrożenie na ich podstawie nowych rozwiązań w programy rozrodowe może skutkować niepotrzebnymi, nadmiarowymi kastracjami lub niepotrzebnym wycofywaniem określonych osobników z populacji reprodukcyjnej, co z kolei może negatywnie wpłynąć na zmienność genetyczną w obrębie rasy, zamiast poprawić jej ogólny stan zdrowia.

Niniejsze opracowanie uzyskało wspólne wsparcie finansowe ze strony Orthopedic Foundation for Animals oraz American Kennel Club Canine Health Foundation. Celem jego powstania było zapewnienie właścicielom psów, hodowcom i lekarzom weterynarii podstawowej wiedzy z zakresu genetyki psa, która umożliwi właściwą interpretację i zrozumienie skutków wyników badań genetycznych. Informacje zawarte w tym opracowaniu wspomogą podjęcie decyzji, czy i jakie zmiany należy wprowadzić, aby poprawić jakość życia i dobrostan psów. Przedstawiony dokument zostanie zaktualizowany, gdy tylko zajdzie taka potrzeba. Uzupełnieniem niniejszego opracowania jest słownik pojęć genetycznych oraz filmy dydaktyczne, które pomogą w lepszym zrozumieniu ważnych koncepcji genetycznych. W niniejszym opracowaniu omówiono rodzaje wykorzystywanych obecnie testów genetycznych oraz ich ograniczenia, a także potencjalnie szkodliwy wpływ niewłaściwej interpretacji wyników badań zarówno w odniesieniu do psów towarzyszących, jak i hodowlanych. Całość rozszerzono o rozważania dotyczące przyszłości badań genetycznych u psów oraz ich spodziewanych ograniczeń.

ROZDZIAŁ I

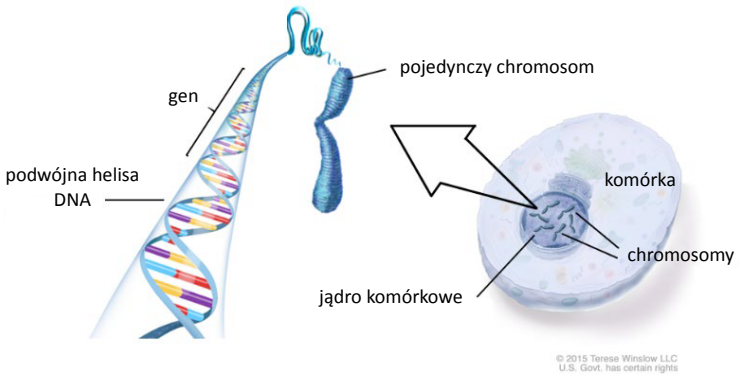
PODSTAWY

Do zrozumienia niuansów badań genetycznych niezbędna jest znajomość podstaw genetyki i praw dziedziczenia. W tym rozdziale omówiono budowę materiału genetycznego psów, sposób, w jaki wpływa on na kształtowanie poszczególnych cech, oraz różne sposoby przekazywania genów przez rodziców do potomstwa. Film nawiązujący do tych zagadnień znajduje się na stronie: https://www.youtube.com/watch?v=oKwWeEebQqM.

DNA i chromosomy

Pies jest zbudowany z bilionów komórek. W większości z nich znajduje się obszar (jądro komórkowe) zawierający materiał genetyczny, inaczej zwany genomem, który jest swoistą instrukcją rozwoju i funkcjonowania zwierzęcia, ponieważ determinuje m.in. jego budowę ciała, trawienie różnych składników pokarmowych, rozród, zachowanie i wiele innych cech.

Genom psa jest zbudowany z długich cząsteczek DNA, składających się z dwóch owiniętych ze sobą nici, które tworzą podwójną helisę. Cząsteczki te są ciasno upakowane w struktury zwane chromosomami (**ryc. 1**). Każda nić DNA składa się z pojedynczych cegiełek, czyli nukleotydów. Istnieją cztery rodzaje nukleotydów określane od nazw zasad azotowych w nukleotydach skrótami A, C, T i G. Genom psa składa się z ok. 3 mld nukleotydów (obecnie liczbę tę określa się na poziomie 2,4 mld) zorganizowanych w postaci chromosomów.

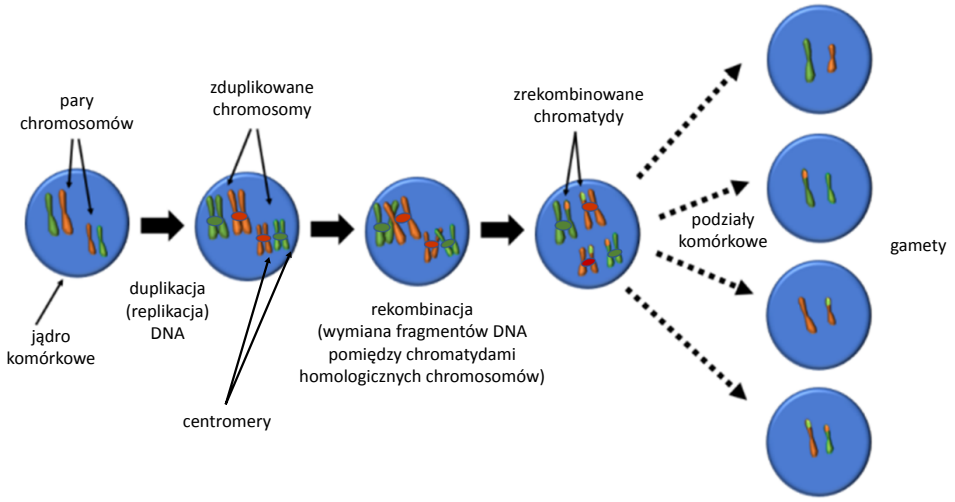


Rycina 1. Umiejscowienie i budowa materiału genetycznego, czyli genomu, psa. W jądrze komórki somatycznej występują pary chromosomów homologicznych (jeden pochodzi od ojca, a drugi od matki)

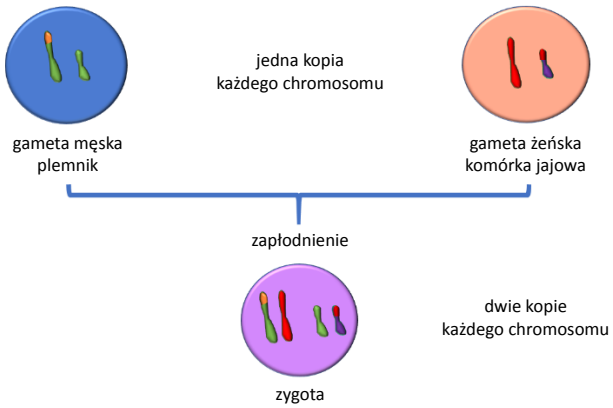
W jądrze komórkowym znajdują się chromosomy, które różnią się kształtem, długością i zawartością DNA. Chromosomy występują w parach homologicznych (tworząc układ diploidalny), co oznacza, że każda komórka posiada dwie kopie danego chromosomu, przy czym jedna kopia pochodzi od matki, a druga od ojca. Inaczej mówiąc, genom to instrukcja genetyczna zorganizowana w haploidalnym zestawie chromosomów. Psy posiadają 78 chromosomów, czyli 39 par chromosomów homologicznych, z czego jedną parę stanowią chromosomy płci. Pozostałe 38 par chromosomów nazywanych jest autosomami. Chromosomy płci determinują płeć danego osobnika – chromosomy XX dają szczenię płci żeńskiej, zaś chromosomy XY szczeniaka płci męskiej.

Podziały komórkowe i rozmnażanie płciowe

Komórki ciała (czyli komórki somatyczne) podlegają nieustannym podziałom, podczas których powstają ich dokładne kopie. Dzięki temu stare lub uszkodzone komórki są nieustannie zastępowane nowymi, co pozwala na utrzymanie zdrowia poszczególnych tkanek i organów. Komórki płciowe podlegają innemu, wyspecjalizowanemu rodzajowi podziału komórkowego, zwanego mejozą, w którym powstają komórki jajowe lub plemniki (**ryc. 2**). W pierwszym etapie podziału mejotycznego wszystkie chromosomy są kopiowane (replikowane), przez co w komórce znajdują się cztery kopie każdego chromosomu (obecne są dwa chromosomy, z których każdy zbudowany jest z dwóch identycznych chromatyd). Następnie niektóre chromatydy chromosomów homologicznych wymieniają między sobą segmenty DNA, a proces ten nosi nazwę rekombinacji. Po jego zakończeniu dwa chromosomy są identyczne z oryginałem, a dwa pozostałe różnią się, ponieważ zostały zrekombinowane. Komórka rozdzieli je do oddzielnych komórek, tworząc gamety: u osobników żeńskich będą to komórki jajowe, a u osobników męskich – plemniki. W dalszej części tego opracowania mianem gamety określa się zarówno komórki jajowe, jak i plemniki.



Rycina 2. Uproszczony schemat procesu duplikacji (replikacji) i rekombinacji DNA, który zachodzi w komórkach rozrodczych podlegających mejozie, co prowadzi do powstania gamet. Na rycinie przedstawiono jedynie dwie z 39 par chromosomów obecnych w każdej komórce



Rycina 3. Uproszczony schemat procesu zapłodnienia ukazujący jądro dwóch gamet (jednej żeńskiej, drugiej męskiej), które łączą się, aby stworzyć komórkę diploidalną (zygotę). Z zygoty powstanie szczenię

Poprzez wyspecjalizowany podział mejotyczny gamety otrzymują tylko jedną kopię każdego chromosomu (zestaw haploidalny). W procesie rozmnażania płciowego komórka jajowa łączy się z plemnikiem i razem tworzą nową komórkę, która zawiera dwie kopie chromosomu (zestaw diploidalny): jedną pochodzącą od matki i drugą pochodzącą od ojca (**ryc. 3**). Ta nowa komórka, nazywana zygotą, posiada kompletną instrukcję genetyczną potrzebną do powstania nowego organizmu (szczenięcia), który będzie się różnił od każdego z rodziców [1]. Film o powstawaniu gamet znajduje się na stronie: https://www.youtube.com/watch?v=67GsvJJMcmE.

Cechy, geny i allele

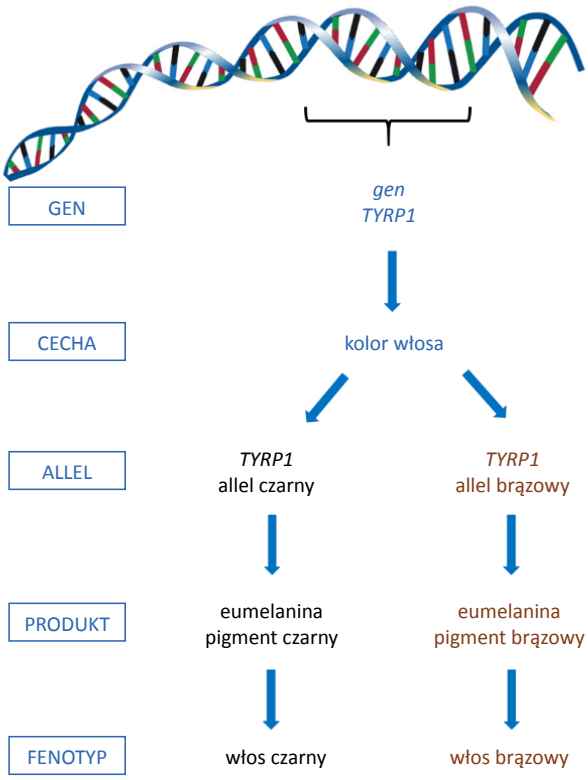
Wzdłuż chromosomów znajdują się obszary DNA, które tworzą geny. Obecnie uważa się, że u psów występuje ok. 19 000 genów kodujących białka, jednak wraz z rozwojem wiedzy przekonanie to może ulec zmianie. Każdy chromosom zawiera setki genów, a każdy z nich ma swoją konkretną lokalizację w chromosomie. Jest ona odpowiednikiem dokładnego adresu danego genu i określa się ją jako locus. Dana sekwencja nukleotydów zapewnia instrukcję budowy produktu, który determinuje konkretną cechę. W niniejszym opracowaniu cechą nazywamy każdą właściwość fizyczną, która może być przekazana szczenięciu przez rodziców, zaś każdą zauważalną cechę określamy jako fenotyp. Trzeba tu zaznaczyć, że niektóre cechy, np. kolor oczu, mogą mieć więcej niż jeden fenotyp. Pewne fenotypy nie są pożądane, jak choroba dziedziczna lub określony kolor okrywy włosowej, który nie spełnia wymogów typowych dla danej rasy.

Zagadnienie genów i ich sekwencji DNA rozważymy na przykładzie cech okrywy włosowej. Sierść (inaczej włosy) może mieć wiele różnych atrybutów: może być długa lub krótka, prosta, falowana lub kręcona, może mieć kolor głęboki, blady lub nie mieć go wcale, a wszystkie wymienione powyżej cechy określają widoczną okrywę włosową danego psa. W rzeczywistości widzimy zbiór wielu różnych fenotypów, z których każdy podlega wpływowi innego genu. Na przykład długość sierści jest cechą, a długa sierść jest jednym z wielu możliwych fenotypów tej cechy. Chociaż wszystkie psy posiadają taki sam zbiór genów, to ich fenotypy różnią się od siebie.

Kiedy komórka podlega podziałowi, duplikacji ulega także jej materiał genetyczny. Chociaż mechanizmy odpowiedzialne za kopiowanie DNA są niesamowicie wydajne i dokładne, niekiedy dochodzi do swoistych pomyłek, które powodują zmiany w oryginalnej sekwencji DNA komórki. Takie pomyłki możemy uznać za coś w rodzaju literówki w pisowni. Oznacza to, że do oryginalnej sekwencji DNA może się włączyć jeden lub więcej dodatkowych nukleotydów, jeden lub więcej nukleotydów może zostać zastąpionych przez inne albo nawet mogą one zostać usunięte. Błędy powstające podczas kopiowania DNA komórki nazywa się mutacjami lub wariantami genetycznymi. Kiedy wariant wynika jedynie z pojedynczej różnicy w sekwencji nukleotydów DNA, nazywamy go polimorfizmem pojedynczego nukleotydu (*single nucleotide polymorphism*, SNP) lub tzw. snipem. Jeśli brakuje fragmentu DNA, mówimy o delecji (DEL), a gdy jest on dodany – mamy do czynienia z insercją (INS). Zmiana DNA jest nazywana wariantem, ponieważ jej sekwencja to odmiana sekwencji referencyjnej. W przypadku psów sekwencję referencyjną opracowano na podstawie genomu suki rasy bokser, której DNA zsekwencjonowano w 2005 r. [2].

Choć niektóre warianty nie muszą zmieniać funkcji danej sekwencji DNA, to jednak inne zmieniają instrukcje zawarte w genie, co skutkuje wyprodukowaniem na jej podstawie nieco innego białka i powstaniem innego fenotypu w porównaniu z fenotypem oryginalnym, tzw. dzikim. Wracając do przykładu z sierścią: jednym z wielu genów określających barwę włosa jest gen kodujący białko tyrozynazę typu 1 (*tyrosinase related protein 1*, *TYRP1*), określany także jako locus B. Nawiasem mówiąc, słowo locus bywa wykorzystywane również wtedy, gdy gen warunkujący określoną cechę nie został jeszcze odkryty. W omawianym przypadku nazwa locus B była używana, zanim

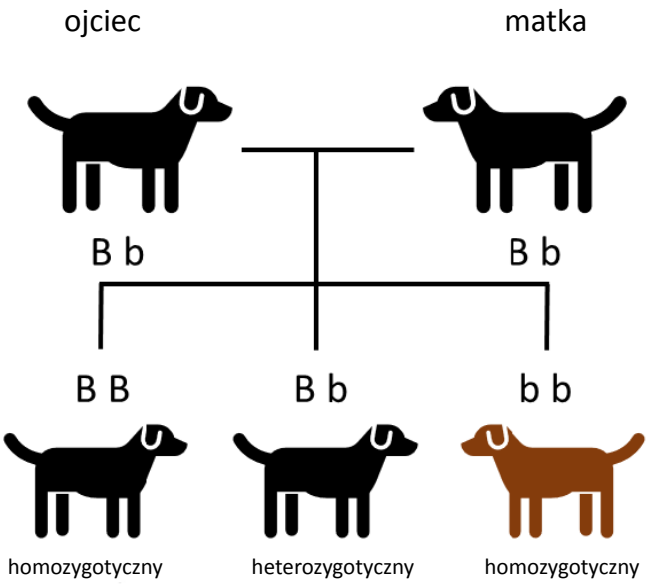
zidentyfikowano gen *TYRP1*, a ponieważ jest ona łatwiejsza do zapamiętania, nadal spotyka się ją w terminologii. Gen *TYRP1* zawiera instrukcję produkcji czarnego pigmentu, który sprawia, że okrywa włosowa jest czarna. Na **ryc. 4** przedstawiono dwie formy genu *TYRP1*, z czego podstawowa (tzw. dzika) wersja genu odpowiada za powstanie czarnej barwy włosa, a wariant tego genu warunkuje barwę brązową. Różne kolory włosa są efektem działania tego samego genu, ale ich rzeczywista sekwencja DNA nieco się różni. Różne postaci tego samego genu nazywamy allelami.



Rycina 4. Budowa DNA, jego elementy składowe i przykład, jak różne postaci tego samego genu warunkują powstanie odmiennych fenotypów

Choć w populacji może być wiele różnych alleli danego genu, pojedynczy pies może mieć najwyżej dwa allele dla każdego genu: jeden allel dziedziczony po matce i drugi dziedziczony po ojcu. Połączenie obu alleli nazywane jest genotypem. Gdy szczenię otrzymuje dokładnie taki sam allel od ojca i od matki, mówi się, że jest homozygotą dla tego allelu i ma homozygotyczny genotyp dla tego genu (**ryc. 5**). W innym przypadku, a więc gdy szczenię dziedziczy różne allele od matki i ojca, mówi się, że jest heterozygotyczne i ma heterozygotyczny genotyp dla tego genu.

Każdy pojedynczy pies przenosi dokładnie dwa allele dla każdego ze swoich genów. Co zatem stanie się, gdy będą one różne? Jaki kolor będzie miała okrywa włosowa psa, w przypadku gdy w loci (l. mn. od locus) dla genu *TYRP1* w jednym chromosomie będzie allel brązowej barwy, a w drugim chromosomie homologicznym allel czarnej barwy? Fenotyp psów z dwoma różnymi allelami zależy od związku pomiędzy allelami a kodowanymi przez nie białkami. Niektóre allele są całkowicie dominujące, a ich ekspresja fenotypu zawsze przeważa nad innymi allelami. To jest właśnie przypadek czarnej barwy genu *TYRP1*. Oznacza to, że każdy pies, który posiada przynajmniej jeden allel czarnej barwy genu *TYRP1*, będzie miał czarna okrywę włosową, nawet jeżeli drugi allel będzie odpowiadał za barwę brązową. Allele dominujące zapisuje się dużymi literami (np. B; **ryc. 5**). Należy zwrócić uwagę, że w tym konkretnym przypadku, allelem dominującym jest allel typu dzikiego, choć nie zawsze tak się dzieje. Niektóre geny mają allele dzikie, które są recesywne.



Rycina 5. Rodowód ukazujący dziedziczenie genu *TYRP1* u psów. Szczenięta otrzymujące taki sam allel od obojga rodziców będą miały genotyp homozygotyczny. Osobniki homozygotyczne dominujące (BB) będą miały umaszczenie czarne, a homozygotyczne recesywne (bb) umaszczenie brązowe. Szczenięta dziedziczące różne allele od matki i od ojca będą miały genotyp heterozygotyczny i czarne umaszczenie, ponieważ allel czarnej barwy dominuje nad allelem barwy brązowej. Heterozygotyczne czarne psy będą nosicielami allelu recesywnego, który mogą przekazać kolejnym pokoleniom

Ponieważ kolor brązowy nie uwidacznia się w obecności dominującego allelu barwy czarnej, mówi się, że allel brązowy jest recesywny. Allele recesywne zapisuje się małymi literami (np. b), a szczenię musi mieć dwa recesywne allele brązowe (genotyp bb), aby jego umaszczenie było brązowe. Inaczej jest w przypadku allelu barwy czarnej, ponieważ pies potrzebuje tylko jednego allelu tej barwy, by jego umaszczenie było czarne, co znaczy, że czarny pies może mieć genotyp homozygotyczny dominujący (BB) lub genotyp heterozygotyczny (Bb). Określenia dominujący i recesywny są wykorzystywane także do opisu sposobu dziedziczenia fenotypu, co omówiono w części II.

Niektóre geny, jak *TYRP1*, występują u psów wyłącznie w dwóch postaciach, podczas gdy inne geny (np. gen białych plam, czyli agouti) mogą mieć więcej niż dwa allele, przy czym każdy daje w rezultacie inny fenotyp. Istnienie więcej niż dwóch alleli danego genu określane jest często mianem serii alleli wielokrotnych lub serii allelicznej, w obrębie której może występować hierarchia dominacji pomiędzy różnymi allelami. Przykład takiego zjawiska znajduje się na stronie 14.

Allele danego genu mogą determinować cechy pożądane i niepożądane, a nawet odpowiadać za wystąpienie chorób dziedzicznych. Choć często można spotkać się ze stwierdzeniem, że pies ma „zły" gen danej cechy, w rzeczywistości ma on „zły" allel genu rządzącego daną cechą. Grupa psów może mieć wiele różnych alleli danego genu. Obfitość różnych możliwych alleli w obrębie populacji określa się przy pomocy specjalnego parametru nazywanego częstością alleli. Im obficiej występuje dany allel, tym większa jest jego częstość i tym bardziej prawdopodobny jest powiązany z nim fenotyp. Na przykład allel determinujący krótki włos ma wysoką częstość w rasach charakteryzujących się krótką okrywą włosową.

Podczas kształtowania rasy hodowcy specjalnie zwiększają częstość występowania alleli, które definiują fenotypy cechujące daną rasę. Jeśli w przypadku jakiejś cechy określającej daną rasę nie występuje zmienność alleli, wszystkie szczenięta dowolnych rodziców tej rasy będą posiadać tę cechę. Z kolei gdy w hodowanej populacji występuje tylko jeden allel (tzn. nie ma zmienności), określa się go jako allel utrwalony w danej rasie. Na przykład allel B genu *TYRP1* jest praktycznie utrwalony w rasie psów schipperke, u których kolor czarny sierści jest fenotypem definiującym rasę. Z kolei u psów rasy labrador retriever gen *TYRP1* jest zmienny, ponieważ u zwierząt tych występują oba allele i możliwe jest umaszczenie czarne (BB lub Bb) lub brązowe/czekoladowe (bb) [w istocie umaszczenie w tej rasie zależy od dwóch genów, B oraz E, czego efektem są umaszczenia czarne, czekoladowe lub żółte. Patrz podrozdział o epistazie – przyp. kons.].

Geny, sprzężenie i rekombinacja

Jak opisano wcześniej, proces zwany rekombinacją zachodzi podczas tworzenia gamet. W jego trakcie dochodzi do wymiany fragmentów DNA pomiędzy chromatydami chromosomów homologicznych. Wymieniane fragmenty DNA odpowiadają temu samemu obszarowi obydwu chromosomów, a zatem zawierają te same loci genów, jednak każdy z pary chromosomów może mieć inny allel wymienianego genu. Rekombinacja jest zjawiskiem przypadkowym, które może zajść w każdym miejscu chromosomu. Dzięki przetasowaniu alleli pomiędzy parami chromosomów jest ważnym mechanizmem kreowania zmienności genetycznej.

Ważne, aby zrozumieć, że im bliżej siebie znajdują się dwa geny w obrębie tego samego chromosomu, tym szansa na wystąpienie rekombinacji pomiędzy nimi i na przetasowanie ich alleli jest mniejsza. Dlatego allele genów, które fizycznie znajdują się blisko siebie na chromosomie, wykazują tendencję do wspólnego dziedziczenia, a geny te określa się mianem sprzężonych. Co prawda, wystąpienie rekombinacji między dwoma sprzężonymi genami jest możliwe, jednak przełamanie tego sprzężenia jest mało prawdopodobne ze względu na ich bezpośrednie lub bliskie sąsiedztwo. Wizualizację mechanizmów sprzężenia i rekombinacji można obejrzeć na stronie: https://www.youtube.com/watch?v=A9YinBpt5I0.

ROZDZIAŁ II

MODELE DZIEDZICZENIA

Dziedziczenie mendlowskie oraz szachownica Punnetta

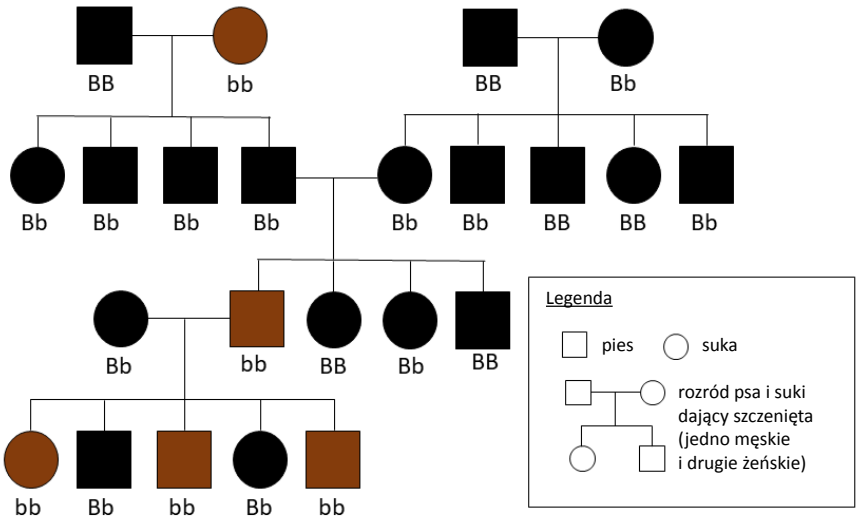
Modele (lub schematy) dziedziczenia odnoszą się do tego, w jaki sposób dana cecha jest przekazywana potomstwu przez rodziców w kolejnych pokoleniach. Podczas obserwowania uprawy zielonego groszku mnich Gregor Mendel badał fenotypy roślin i sformułował zasady dziedziczenia nazywane obecnie dziedziczeniem mendlowskim. Określenie mendlowski najczęściej wykorzystuje się do opisania cech, które są determinowane przez pojedynczy gen (czyli cech monogenowych), gdzie jeden allel całkowicie dominuje nad drugim (jak we wcześniej opisanym przykładzie czarnej i brązowej okrywy włosowej). Dostępne są dwa filmy, w których zilustrowano autosomalny sposób dziedziczenia (tu: https://www.youtube.com/watch?v=LUVzBJ4vr1Q) oraz dziedziczenie sprzężone z płcią (tu: https://www.youtube.com/watch?v=gcH15HSyB5I).

Autosomalny dominujący

Psy mają 39 par chromosomów (diploidalna liczba chromosomów u psów wynosi 2n = 78), wśród których 38 par stanowią autosomy, zaś 1 para to chromosomy płci. Dziedziczenie autosomalne dominujące odnosi się do dziedziczenia fenotypu wywoływanego przez całkowicie dominujący allel genu zlokalizowanego w autosomie. Na przykład czarny kolor okrywy włosowej, jak opisano wcześniej, może być skutkiem autosomalnego dominującego allelu genu *TYRP1* (lub locus B) zlokalizowanego w chromosomie 11 psa, który jest autosomem. Podczas badania drzewa genealogicznego lub rodowodu pokazującego schemat dziedziczenia fenotypu autosomalnego dominującego (np. czarne umaszczenie zależne od genu *TYRP1*) można zobaczyć, że fenotyp dominujący pojawia się w każdym pokoleniu (**ryc. 6**). Jeżeli chociaż jeden z rodziców ma fenotyp dominujący, istnieje przynajmniej 50% szans na to, że otrzyma go także szczenię. W części *Szachownica Punnetta oraz przewidywanie fenotypu* wyjaśniono, w jaki sposób oblicza się statystyczne prawdopodobieństwo wystąpienia fenotypu dominującego w danym miocie.

Autosomalny recesywny

Dziedziczenie autosomalne recesywne odnosi się do dziedziczenia fenotypu powodowanego przez allele recesywne zlokalizowane w autosomach. Z tego powodu, ekspresja obserwowanego fenotypu wymaga wystąpienia dwóch identycznych alleli recesywnych (tj. genotypu homozygotycznego recesywnego). Wynika to z tego, że allele recesywne łatwo zostają „przesłonięte" przez allel dominujący. Jak opisano wcześniej, brązowy kolor okrywy włosowej dziedziczony jest w sposób autosomalny recesywny, a więc tylko psy posiadające dwa recesywne allele w locus B będą miały brązową sierść. Podczas badania drzewa genealogicznego lub rodowodu pokazującego schemat dziedziczenia fenotypu autosomalnego recesywnego zobaczymy, że w odróżnieniu od fenotypu dominującego, fenotyp recesywny zwykle nie pojawia się w każdym pokoleniu (jest to tzw. przeskok pokoleniowy). Jak przedstawiono na **ryc. 6**, może się zdarzyć, że obydwoje rodzice mają czarne futro, a w miocie pojawi się brązowe szczenię. Wynika to z tego, że czarne psy mogą mieć genotyp heterozygotyczny, co oznacza, że choć wykazują fenotyp dominujący, to mogą być nosicielami recesywnego allelu barwy brązowej. Na stronie https://www.youtube.com/watch?v=5Fw-VMTH8to dostępny jest film, w którym wyjaśniono, w jaki sposób można obliczyć statystyczne prawdopodobieństwo wystąpienia fenotypu recesywnego w danym miocie.



Rycina 6. Rodowód prezentujący dziedziczenie czarnego i brązowego umaszczenia determinowanego przez gen *TYRP1*. Genotypy: BB – homozygotyczny dominujący (czarny), Bb – heterozygotyczny (czarny) i bb – homozygotyczny recesywny (brązowy). Jak widać, fenotyp dominujący (czarne umaszczenie) występuje w każdym pokoleniu, zaś genotyp recesywny może przeskakiwać pokolenia

Sprzężone z płcią

Jak już wspomniano, jedna z par chromosomów psa nazywana jest chromosomami płci. Determinują one płeć zwierzęcia: suka ma dwa chromosomy X (tj. XX), a samiec jeden chromosom X oraz jeden chromosom Y (tj. XY). Tylko niektóre cechy łączy się z genami znajdującymi się w chromosomach płci psów. Określenia „dominujące" i „recesywne" stosuje się do fenotypów sprzężonych z płcią w ten sam sposób, co w przypadku cech determinowanych przez chromosomy autosomalne, jakkolwiek ostateczny efekt fenotypowy będzie uzależniony od płci psa. Geny położone w chromosomie X określane są jako sprzężone z płcią.

Ponieważ suki mają dwa chromosomy X, ekspresja fenotypów dominujących lub recesywnych przebiega u nich według takiego samego schematu, co w przypadku cech autosomalnych. Oznacza to, że cechy dominujące występują u suk homo- lub heterozygotycznych dla danego genu, podczas gdy cechy recesywne są widoczne jedynie u suk posiadających dwa recesywne allele danego genu (tj. są homozygotami recesywnymi). Z kolei samce psów mają tylko jeden chromosom X i po jednym allelu położonym w chromosomie X. W tym przypadku pojedynczy allel recesywny spowoduje ekspresję danej cechy u samca, ponieważ nie ma drugiego allelu, który mógłby zdominować allel recesywny.

Na przykład hemofilia typu B, a więc recesywna choroba sprzężona z płcią (odpowiedzialny za nią gen znajduje się w chromosomie X) powodująca przedłużone krwawienie (zaburzenie krzepnięcia krwi), występuje u niemieckich wyżłów szorstkowłosych. Ponieważ gen kodujący czynnik IX krzepnięcia wywołujący tę chorobę zlokalizowany jest w chromosomie X, u wszystkich samców posiadających allel recesywny wystąpią objawy kliniczne hemofilii. Tymczasem suki mogą być heterozygotyczne, czyli mogą posiadać determinujący chorobę allel recesywny, któremu towarzyszy prawidłowy allel dominujący, co oznacza, że choroba u nich nie wystąpi. Trzeba jednak pamiętać, że choć u heterozygotycznych suk choroba nie wystąpi, mogą przekazać wywołujący chorobę allel recesywny szczeniętom. Sukę, która po pokryciu przez zdrowego samca urodziła chore na hemofilię szczenię, uznaje się za potwierdzoną nosicielkę allelu determinującego hemofilię typu B.

W chromosomie Y również zlokalizowane są geny, ale ponieważ jest zdecydowanie mniejszy od chromosomu X, jest ich znacznie mniej. Cechy lub choroby zależne od genów umiejscowionych

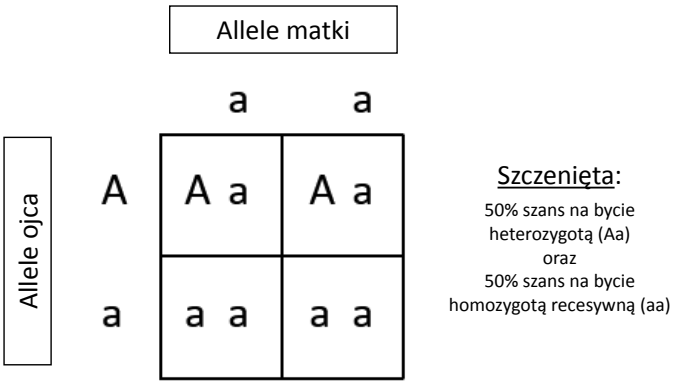
w chromosomie Y występują tylko u samców, ponieważ suki go nie posiadają. Geny te są przekazywane tylko od ojca do jego synów. Obecnie nie znamy żadnych chorób sprzężonych z chromosomem Y występujących u psów.

Należy wyraźnie odróżniać cechy sprzężone z płcią od cech związanych z płcią. Cechy związane z płcią występują jedynie u osobników jednej z płci. Na przykład wnętrostwo (*cryptorchidism*), polegające na braku zstąpienia jednego lub obydwu jąder przez kanał pachwinowy do moszny w pierwszych miesiącach życia szczenięcia, jest wadą występującą jedynie u samców. Dlatego jest ono cechą związaną z płcią, a nie cechą sprzężoną z płcią – występuje jedynie u potomków męskich, a jej dziedziczenie jest autosomalne [3]. Badania genetyczne wykazały, że wnętrostwo jest determinowane przez więcej niż jeden gen autosomalny, choć do tej pory nie wskazano jednoznacznie żadnego genu odpowiedzialnego za tę chorobę [4]. Suki mogą posiadać allele wywołujące wnętrostwo, które jednak u nich nie wystąpi, ponieważ nie mają jąder.

Szachownica Punnetta oraz przewidywanie fenotypu

W przypadku tzw. cech mendlowskich o znanym modelu dziedziczenia można wykorzystać informacje o rodzicach, aby przewidzieć możliwe genotypy i fenotypy szczeniąt. Można to zrobić, korzystając z tabeli zawierającej cztery kwadranty, nazywanej powszechnie szachownicą Punnetta. Na górze tabeli wymienia się allele obecne w gametach matki, a na boku allele występujące w gametach ojca. Kwadranty wypełnia się następnie jedną gametą od każdego z rodziców (symulując w ten sposób proces zapłodnienia), dzięki czemu otrzymuje się wszystkie możliwe kombinacje, które może odziedziczyć szczenię z takiego krycia. Proporcje, w jakich występują genotypy homozygotyczne dominujące, heterozygotyczne i/lub homozygotyczne recesywne, stosuje się do oszacowania prawdopodobieństwa wystąpienia jednego z potencjalnych fenotypów w danym miocie. Wykorzystując przykład przedstawiony na **ryc. 7**, omówimy pokrycie homozygotycznej suki z recesywnymi allelami tego samego genu (aa) przez heterozygotycznego samca dla tego samego genu (Aa). W tabeli pojawią się dwa kwadranty reprezentujące szczenięta z genotypem heterozygotycznym oraz dwa kwadranty reprezentujące szczenięta o genotypie homozygotycznym recesywnym. Oznacza to, że mamy 50% szans na to, że szczenię z danego miotu będzie miało fenotyp dominujący, i 50% szans na wystąpienie fenotypu recesywnego.

Należy zaznaczyć, że jeśli analiza będzie dotyczyła segregacji alleli większej liczby genów, to liczba kwadrantów w szachownicy Punnetta zwiększy się proporcjonalnie do liczby możliwych gamet, przez co stanie się bardziej skomplikowana. Więcej informacji i przykładów wykorzystania szachownicy Punnetta przedstawiono na stronie: https://www.youtube.com/watch?v=5Fw--VMTH8to.



Rycina 7. Szachownica Punnetta pokazująca wszystkie możliwe kombinacje genotypów dla kojarzenia heterozygotycznego psa (Aa) i homozygotycznej recesywnej suki (aa). Szczenięta z takiego krycia mają 50% szans na bycie heterozygotą oraz 50% szans na bycie recesywną homozygotą

Dziedziczenie niemendlowskie

Znajomość zasad dziedziczenia mendlowskiego umożliwia zrozumienie, w jaki sposób cechy mogą zostać przekazane szczeniętom przez ich ojca lub matkę. Tym niemniej, jak zaobserwowano u innych ssaków, wiele cech z różnych powodów nie ma tak prostego uwarunkowania, jak opisane przez Mendla, co oznacza, że analiza rodowodu nie pozwala na ustalenie modelu dziedziczenia. Tym samym identyfikacja genów kontrolujących takie cechy jest trudniejsza. Nawet jeśli testy genetyczne są dostępne, należy przeprowadzić wnikliwą interpretację uzyskanych wyników, aby wychwycić wszystkie czynniki determinujące taką cechę. Dalej omówiono sposoby dziedziczenia niemendlowskiego, a ich krótkie objaśnienie wraz z przykładami wizualnymi można znaleźć na stronie: https://www.youtube.com/watch?v=RSgQyrKHb74.

Dominacja niepełna (niezupełna)

Dominacja niepełna występuje przy braku relacji recesywność/dominacja pomiędzy różnymi allelami danego genu. W takim przypadku u heterozygotycznych psów występuje mieszanina dwóch możliwych fenotypów (np. fenotyp przejściowy, który wydaje się mieszanką dwóch fenotypów wynikających z każdego z alleli).

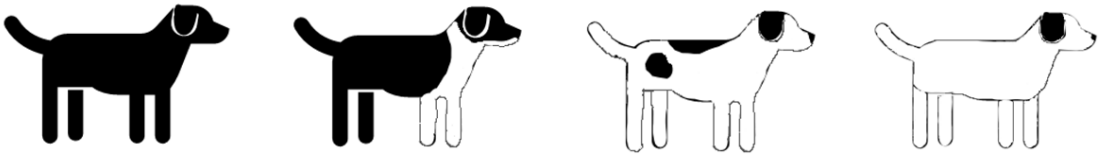
Umaszczenie marmurkowate (*merle*) jest przykładem niezupełnej dominacji [5]. Istnieją dwa allele dla tego genu, opisywane wielką literą M oraz małą literą m. Pomimo użycia liter wielkich i małych dla oznaczenia każdego z alleli, nie ma między nimi relacji dominacja/recesywność. Homozygotyczne psy mm wykazują całkowitą ekspresję koloru okrywy włosowej, podczas gdy homozygotyczne psy MM są niemal całkowicie białe i mogą mieć dodatkowe powiązane defekty, jak głuchota (więcej informacji na ten temat znajduje się w części dotyczącej plejotropizmu). Tymczasem psy heterozygotyczne dla allelu merle (Mm) wykazują fenotyp przejściowy z obszarami całkowitej pigmentacji przeplecionymi obszarami o lekkiej pigmentacji, co daje efekt marmurkowania [6].

Penetracja niepełna (niezupełna)

Penetrację genu określa odsetek psów, które mając określony genotyp, wykazują powiązany z nim fenotyp. Penetracja całkowita oznacza, że każdy pies z danym genotypem wykazuje powiązany z nim fenotyp, zaś w przypadku penetracji niepełnej fenotyp ten będzie prezentowała jedynie część psów z danym genotypem. Rzadką łagodną i nieproporcjonalną karłowatość u psów rasy labrador retriever powoduje mutacja w genie kolagenu (*COL11A2*), która ma niepełną penetrację [7].

Allele wielokrotne

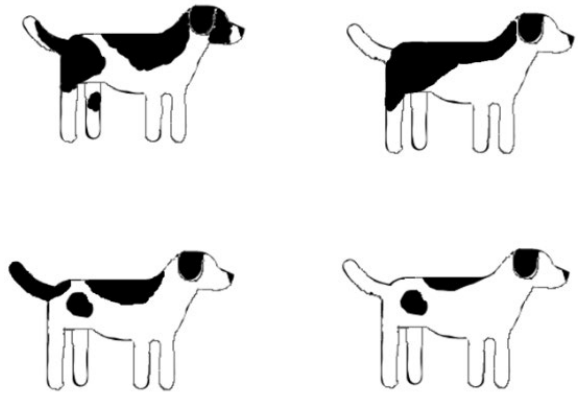
W przypadku wielu genów obserwuje się więcej niż dwie formy danego genu (alleli) w populacji, co skutkuje wieloma możliwymi fenotypami zależnymi od kombinacji alleli posiadanych przez psa oraz relacji między nimi. Dobrym tego przykładem jest locus S, w którym występuje gen czynnika transkrypcyjnego związanego z mikroftalmią (małooczem) (*microphtalmia-associated transcription factor gene*, *MITF*). Determinuje on w głównym stopniu występowanie białych łat w umaszczeniu psów. Zidentyfikowano cztery allele, które układają się w szereg dominacyjny nad pozostałymi: S (jednolite czarne umaszczenie), s^i (drugi allel w szeregu dominacji odpowiada za białą barwę w części piersiowej i biały kołnierz wokół szyi, którym mogą towarzyszyć białe łaty na pysku, jest to tzw. umaszczenie irlandzkie), s^p (odpowiada za losowe rozmieszczenie białych łat, czyli tzw. łaciatość [*piebald spotting*]), oraz s^w (allel, który jest recesywny w odniesieniu do trzech wymienionych powyżej, warunkujący prawie całkowicie białe umaszczenie, określane mianem skrajnej łaciatości [*extreme white*]) (**ryc. 8**) [9, 10].



Rycina 8. Różne fenotypy umaszczenia z białymi łatami determinowane przez allele locus S

Zmienna ekspresywność

Zmienna ekspresywność odnosi się do wachlarza fenotypów wynikających z tego samego genotypu. Oznacza to, że wszystkie osobniki posiadające określony genotyp będą manifestować powiązany z nim fenotyp, ale będzie je różnić jego stopień lub nasilenie. Przykładem zmiennej ekspresji jest łaciatość (*piebald spotting*) psów (**ryc. 8**), w przypadku której rzeczywista liczba białych plam może znacząco różnić się u psów z takim samym genotypem [11].



Rycina 9. Genotyp $s^P s^P$ odpowiadający za wystąpienie łaciatości wykazuje zmienną ekspresywność, co widać na zaprezentowanych przykładach

Dziedziczenie wielogenowe i złożone

W odróżnieniu od cech mendlowskich, które są uzależnione od jednego genu (tzn. są monogenowe), cechami złożonymi rządzi więcej niż jeden gen (tzn. są one poligenowe). Mogą one także podlegać wpływom środowiskowym (czyli są wieloczynnikowe) [12, 13]. Kolor oczu u psów uważany jest za cechę wielogenową, zaś rozmiar ciała za cechę wieloczynnikową [14]. Oznacza to, że zależą one od licznych genów i mają na nie także wpływ czynniki środowiskowe, takie jak aktywność ruchowa czy odżywianie. Innym przykładem cechy wieloczynnikowej u psów jest dysplazja stawów biodrowych [15].

Interakcje między genami

W niektórych przypadkach fenotyp prezentowany dla określonej cechy może być zależny od alleli innych genów. Przykładem interakcji między genami, w których jeden gen wpływa na ekspresję fenotypu innego, jest epistaza.

Choć słowo epistaza ogólnie odnosi się do wzajemnych związków między genami [16], często uważa się ją za najbardziej skrajny przykład interakcji między różnymi genami, w której fenotyp kontrolowany przez jeden gen jest całkowicie maskowany przez inny, niezależnie odziedziczony gen [17]. Epistaza może być dominująca lub recesywna. W epistazie dominującej obecność poje-

dynczego dominującego allelu jednego genu wystarcza do całkowitego zamaskowania fenotypu zależnego od innego genu. Tymczasem w epistazie recesywnej obecność dwóch recesywnych alleli danego genu (układ homozygotyczny recesywny) maskuje fenotyp kontrolowany przez inny gen. Przykładem epistazy recesywnej u psów jest żółte umaszczenie psów rasy labrador retriever. Żółte labradory mają takie umaszczenie, ponieważ posiadają dwa recesywne allele w locus E, o którym wiadomo, że jest genem kodującym receptor dla hormonu melanotropiny (*melanocyte-stimulating hormone receptor gene*, *MC1R*), inaczej zwanej hormonem melanotropowym lub MSH. Genotyp homozygotyczny recesywny (ee) kontroluje ekspresję genu z locus B w taki sposób, że labrador z genotypem BB ma żółte umaszczenie, ponieważ jego genotyp w locus E (ee) blokuje ekspresję genu z locus B. Z tego względu ustalenie, jaki jest genotyp w locus (BB, Bb, czy bb) u labradora z żółtym umaszczeniem, jest trudne.

Gen modyfikujący pojawia się w mniej skrajnych sytuacjach, w których jeden gen wpływa na fenotyp innego genu, co skutkuje zmiennością oczekiwanego fenotypu. Na przykład zgaszony (osłabiony) kolor okrywy włosowej psów jest determinowany przez gen modyfikujący nazywany melanofiliną (*MLPH* lub locus D). Co najmniej trzy różne mutacje tego genu o recesywnym modelu dziedziczenia są powiązane z przygaszoną barwą włosa u wielu ras psów [18–20]. Obecność dowolnych dwóch zmutowanych alleli w locus D daje rozjaśnioną wersję barwy włosa, a więc psy o sierści czarnej (kontrolowanej przez locus B) będą miały sierść niebieską (rozjaśniony kolor czarny), a psy o brązowym umaszczeniu będą w rzeczywistości miały barwę liliową, płową lub izabelowatą (czyli rozjaśniony brąz), czego przykładem są rasy doberman pinczer lub jamnik. Więcej informacji na temat genetycznego podłoża umaszczeń można znaleźć w artykule dostępnym na stronie: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2052.2007.01664.x

Plejotropia

Plejotropia odnosi się do sytuacji, w której pojedynczy gen wpływa na dwie lub więcej pozornie niezwiązane ze sobą cechy. Na przykład niektóre typy umaszczeń (np. łaciatość) są związane z wrodzoną, dziedziczną głuchotą, niebieskimi oczami i wadami oczu [21] (więcej informacji znajduje się na stronie: https://www.akc.org/expert-advice/health/what-you-should-know-about-canine-deafness/). Dzieje się tak dlatego, że mutacje wywołujące zmianę barwy okrywy włosowej wpływają także na komórki ważne dla rozwoju oczu i uszu. Inny przykład plejotropii występuje u psów rasy rhodesian ridgeback, u których gen odpowiedzialny za charakterystyczny grzebień rosnących wstecznie włosów, biegnący wzdłuż grzbietu, może predysponować do powstania wady cewy nerwowej, czyli zatoki skórzastej (*dermoid sinus*) [22].

Dziedziczenie mitochondrialne

Oprócz materiału genetycznego zawartego w jądrze komórkowym (genom jądrowy) odziedziczonym od matki i ojca, DNA występuje w mitochondriach (genom mitochondrialny). Mitochondria są organellami komórkowymi odrębnymi od jądra, które produkują energię potrzebną komórce do funkcjonowania. Genom mitochondrialny różni się od jądrowego tym, że pochodzi wyłącznie od matki, co określa się dziedziczeniem matczynym. Chociaż choroby mitochondrialne dziedziczone są jedynie po matce, to w równym stopniu dotyczą szczeniąt płci żeńskiej i męskiej, ponieważ nie są sprzężone z płcią (tzn. nie są zlokalizowane w chromosomie X) [11]. Dotychczas opisano dwie choroby mitochondrialne występujące u psów. Są to: gąbczasta leukoencefalomielopatia (*spongiform leucoencephalomyelopathy*, SLEM) u australijskich psów pasterskich i owczarków szetlandzkich [23] oraz neuropatia czuciowo-ataktyczna (*sensory ataxic neuropathy*) u golden retrieverów [24].

Kodominacja

Podobnie do niepełnej dominacji, również kodominacja występuje przy braku związku recesywność/dominacja pomiędzy różnymi allelami danego genu. Tym niemniej, w odróżnieniu od niepełnej dominacji, w przypadku kodominacji dochodzi do pełnej ekspresji obu alleli u osobnika heterozygotycznego, a efekty ich działania są widoczne w tym samym czasie. Występowanie kodominacji potwierdzono u ludzi, zaś u psów jak dotąd nie opisano takiej formy współdziałania genów allelicznych.

ROZDZIAŁ III

SELEKCJA GENETYCZNA I POPULACJE

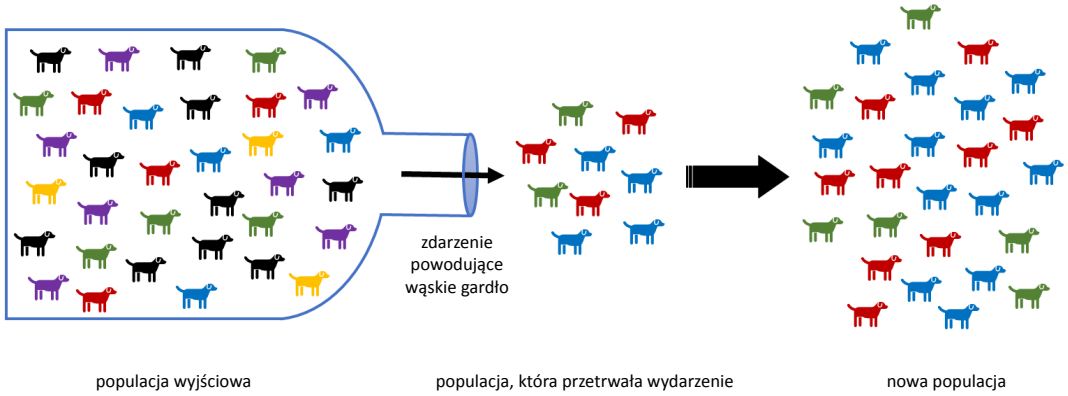
Zróżnicowanie genetyczne odnosi się do różnic na poziomie genetycznym występujących między osobnikami tego samego gatunku. Różnorodność alleli, przegrupowanie (rearanżacja) materiału genetycznego i przekazanie przez rodziców różnych alleli potomstwu w rezultacie prowadzi do powstania genetycznie unikatowych osobników, zapewniając im zmienność cech i potencjał do adaptacji w obrębie gatunku, rozwoju oraz przetrwania dowolnych zmian w ich otoczeniu. Niektóre kombinacje genetyczne, umożliwiające zwierzęciu przetrwanie oraz zdolność do rozmnażania w zmieniającym się środowisku naturalnym, zapewniają pewną przewagę w procesie selekcji naturalnej. Wyobraźmy sobie na przykład, że psy z określoną kombinacją genetyczną są bardziej odporne na śmiertelną chorobę zakaźną, która szerzy się w ich populacji. Osobniki odporne na infekcję przeżyją i przekażą allele odporności następnemu pokoleniu. W efekcie zmieni się częstość występowania tych alleli w populacji, tzn. allele odporności staną się częstsze w populacji, która przetrwa epidemię, w porównaniu z populacją pierwotną. Naturalna selekcja bazuje na dobrej kondycji i zdolności do adaptacji zwierzęcia do otoczenia. Zjawisko to jest bardzo istotne w przypadku populacji dzikich zwierząt.

Selekcję genetyczną można także wywołać sztucznie. Mamy z nią do czynienia, gdy hodowcy celowo wybierają osobniki o konkretnych, pożądanych cechach. Selekcja sztuczna (lub selekcja hodowlana) odzwierciedla preferencje hodowców wobec określonych cech. Na przykład przed setkami lat zauważono, że psy niższe (krótkonożne) lepiej nadają się do polowania na niektóre zwierzęta i dlatego wybierano do dalszego rozrodu osobniki o krótkich kończynach, co pozwalało na uzyskanie miotów krótkonogich szczeniąt. Ponieważ współcześnie psy są hodowane ze względu na ich cechy funkcjonalne lub pokrojowe, preferowane w przypadku psów towarzyszących, selekcja sztuczna odgrywa obecnie większą rolę niż selekcja naturalna [26]. Selekcja sztuczna, choć wzmacnia niektóre cechy, niekoniecznie przyczynia się do lepszej ogólnej kondycji całego gatunku.

W warunkach skrajnych selekcja naturalna i selekcja sztuczna mogą doprowadzić do drastycznego zmniejszenia liczby osobników, które będą się rozmnażać i wnosić wkład w kolejne pokolenie. Taką sytuację określa się mianem gardła populacyjnego (inaczej efekt szyjki od butelki). Jeśli bazę dla przyszłych pokoleń stanowi jedynie kilka osobników, to różnorodność genetyczna danej populacji ulega zmniejszeniu [27], powodując bardziej homogeniczny zasób genetyczny i zubożenie puli genowej (**ryc. 10**).

Wszystkie psy przeszły przez dwa wydarzenia o charakterze wąskiego gardła: pierwszym z nich było udomowienie wilków, a drugim – stworzenie nowoczesnych ras [27]. Warto podkreślić, że naturalna selekcja może wystąpić także w populacjach poddanych sztucznej selekcji. Na przykład we wczesnych latach XX wieku w subpopulacji retrieverów z Nowej Szkocji (*Nova Scotia duck tolling retrievers*, NSDTRs) wybuchły dwie epidemie nosówki [28], które spowodowały przejście przez dodatkowe wąskie gardło selekcji naturalnej, a niewielka liczba psów, które przeżyły, rozrosła się do obecnej populacji NSDTR. Należy także zauważyć, że na skutek wąskiego gardła każda mutacja zachowana w puli genowej osobników, które przeżyły, może występować częściej w następnych pokoleniach. W przypadku retrieverów z Nowej Szkocji wąskie gardło z początku XX w. uważa się za przyczynę dużego rozpowszechnienia chorób genetycznych w obrębie tej rasy.

Na różnorodność genetyczną populacji wpływa także przypadek, np. w sytuacji, gdy tylko niektóre osobniki w obrębie populacji rozmnażają się z dużym sukcesem. Oznacza to, że allele



Rycina 10. Schemat ilustruje sposób, w jaki zdarzenie o charakterze wąskiego gardła (szyjki od butelki), może wpływać na różnorodność genetyczną (pulę genową) populacji. Wykorzystano różne kolory, aby oznaczyć psy mające różne allele tego samego genu. Trzy z sześciu alleli tego genu pozwoliły na przetrwanie, dlatego osobniki z zielonymi, czerwonymi i niebieskimi allelami „przeszły" przez wąskie gardło. Nowa populacja odzwierciedla zmniejszoną różnorodność genetyczną w porównaniu z populacją wyjściową

obecne u ograniczonej liczby zwierząt użytych do stworzenia kolejnych pokoleń zwiększą częstość występowania w puli genowej kolejnych pokoleń i dotyczy to również tych alleli, które nie były preferowane na drodze selekcji. Zjawisko to nazywa się dryfem genetycznym i jest nadzwyczaj ważne w małych populacjach, takich jak rasy psów, które zostały utworzone na bazie ograniczonej liczby osobników. Mamy z nim do czynienia np. w przypadku nadmiernego wykorzystania określonego reproduktora, które może dramatycznie zmienić częstość występowania alleli w małej populacji, skutkując dominującym udziałem jego alleli, dobrych i złych, w następnych pokoleniach. Okazało się, że popularne reproduktory w znacznie większym stopniu przekazują szkodliwe allele niż inne metody hodowlane, jak np. kojarzenie zwierząt spokrewnionych (*inbreeding*) [29]. Efektem dryfu genetycznego jest zmniejszenie zróżnicowania genetycznego danej populacji. Omówienie skutków dryfu genetycznego, efektu założycieli oraz wąskiego gardła można znaleźć na stronie: https://evolution.berkeley.edu/bottlenecks-and-founder-effects/.

Konsekwencją selekcji naturalnej lub sztucznej może być niezamierzona selekcja alleli innych cech ze względu na ich sprzężenie, co określa się mianem selektywnego zamiatania (*selective sweep*). Występuje ono, gdy różne cechy są dziedziczone wspólnie z powodu fizycznej bliskości odpowiadających za nie genów. W takim przypadku selekcja skierowana na jedną cechę powoduje niezamierzoną selekcję skierowaną na inną cechę warunkowaną przez sprzężony gen. Inaczej mówiąc, prowadzenie selekcji pod kątem określonych cech powoduje pojawienie się „pasażerów na gapę", a więc cech, za które odpowiadają geny pozostające w fizycznej bliskości w chromosomie. Może się zdarzyć, że geny dające pożądaną, specyficzną dla danej rasy cechę lub temperament są sprzężone z innym genem kodującym cechę niepożądaną. W takiej sytuacji, pies wybrany do rozrodu ze względu na cechę pożądaną, ale posiadający także „zły" allel w sprzężonym locus, przekaże go kolejnym pokoleniom. Im bliżej siebie takie geny znajdują się w chromosomie, tym mniejsze prawdopodobieństwo, że proces rekombinacji nastąpi między nimi, rozrywając ich genetyczne sprzężenie. Oznacza to, że przy ścisłym sprzężeniu genów, jak w podanym powyżej hipotetycznym przykładzie, należy liczyć się z tym, że wybór cechy pożądanej będzie oznaczał niezamierzone przekazywanie potomstwu także cechy niepożądanej.

Innym ciekawym zjawiskiem, które wpływa na częstotliwość występowania określonych alleli w populacji, jest selekcja zrównoważona (stabilizująca). W selekcji naturalnej jeden allel ma przewagę nad innym, ponieważ odpowiada za lepsze przystosowanie lub możliwość przeżycia w danym środowisku. Z czasem taki uprzywilejowany allel zwiększa częstość występowania, podczas gdy

drugi allel występuje znacznie rzadziej albo wręcz zostaje wyeliminowany. Tymczasem selekcja stabilizująca działa na rzecz utrzymania zróżnicowania genetycznego populacji zamiast zapewniać przewagę jednego allelu nad innym. W selekcji zrównoważonej korzyści wynikające z utrzymania w puli genowej wielu alleli przeważają nad potencjalnie szkodliwym efektem pojedynczego allelu. Na przykład mutacja powodująca anemię sierpowatą u ludzi ogranicza zdolność do prawidłowego rozwoju. A jednak utrzymuje się ona w populacji ze względu na korzyści wynikające z posiadania tej mutacji przez osoby żyjące w rejonach, w których anemia sierpowata jest chorobą endemiczną. Osoby posiadające jeden allel anemii sierpowatej i jeden allel prawidłowy są bardziej odporne na zakażenie malarią niż osoby posiadające dwa allele prawidłowe. Przykłady selekcji stabilizującej opisano także u psów, np. mutacja w genie miostatyny powoduje tzw. podwójne umięśnienie psów rasy whippet. Psy z dwoma zmutowanymi allelami są nadmiernie umięśnione i określa się je mianem „byczych" whippetów („*bully*" *whippets*). Ponadto występują u nich napady kurczu mięśni. Tymczasem psy posiadające jeden allel zmutowany i drugi prawidłowy (typu dzikiego) są bardziej umięśnione niż te o dwóch allelach prawidłowych, co sprawia, że są predysponowane do szybszego biegu [30]. Zmutowany allel daje przewagę w układzie heterozygotycznym i z tego powodu utrzymuje się w puli genowej omawianej rasy. Inny przykład stanowi rasa Belgian malinois, w której psy heterozygotyczne w locus genu kadheryny 2 (*cadherin 2*, *CDH2*), posiadające jeden allel zmutowany i drugi prawidłowy (typu dzikiego) wykazują zmianę behawioralną w postaci średniego natężenia krążenia (zawracania), dzięki czemu lepiej wykonują pracę w ciasnych przestrzeniach. Osobniki z dwoma zmutowanymi allelami przejawiają tę cechę w stopniu nadmiernym, charakterystycznym dla zaburzeń obsesyjno-kompulsywnych [31].

ROZDZIAŁ IV

RASY PSÓW JAKO POPULACJE

Na świecie istnieje ponad 350 ras psów [11, 32], z czego 193 jest oficjalnie uznanych przez Amerykański Związek Hodowców Psów (American Kennel Club) [33]. Rasa składa się z osobników, których fenotyp odpowiada szczególnemu zestawowi cech fizycznych, obejmującemu rozmiar, ubarwienie sierści, długość okrywy włosowej, kształt czaszki itd. W rozrodzie osobniki danej rasy zawsze dają potomstwo z takimi samymi, typowymi dla niej cechami fizycznymi [34]. Prowadzona przez stulecia selekcja skoncentrowana na uzyskaniu psów o określonej charakterystyce zmniejszyła zróżnicowanie genetyczne osobników w obrębie danej rasy. Jednak pomiędzy rasami pozostało istotne zróżnicowanie, dlatego każda osobna rasa tworzy genetycznie odrębną populację [11, 35].

Jak już wspomniano, różne allele mogą wywoływać różne fenotypy określonej cechy. Podczas tworzenia rasy niewielka liczba osobników-założycieli z pożądanymi cechami zostaje wybrana do hodowli w celu ujednolicenia powstałej w ten sposób populacji. Pozwala to hodowcom wyeliminować allele odpowiedzialne za niepożądane cechy. Selekcja w obrębie małej populacji wyjściowej nieodwołalnie prowadzi do tzw. inbredu, inaczej chowu wsobnego, czyli rozrodu pomiędzy blisko spokrewnionymi osobnikami. Pozytywną konsekwencją chowu wsobnego jest utrwalenie pożądanych cech oraz odpowiadających im alleli w puli genowej populacji, co przyczynia się do uzyskiwania ujednoliconych miotów, w których wszystkie szczenięta wykazują zestaw cech uznanych przez hodowców za pożądane. Owa zdolność do replikowania cech definiujących rasę w kolejnych pokoleniach wynika ze zmniejszenia zróżnicowania genetycznego i utrwalenia alleli odpowiadających za cechy specyficzne dla danej rasy, co oznacza osiągnięcie homozygotyczności w odniesieniu do genów charakterystycznych dla danej rasy. Należy jednak pamiętać, że konsekwencją chowu wsobnego jest zwiększenie ryzyka występowania chorób genetycznych w obrębie rasy w efekcie tzw. depresji inbredowej.

Uważa się, że większość chorób lub wad genetycznych psów wywołują allele recesywne. Z tego powodu poprzez zwiększenie częstości występowania pożądanych alleli, prowadzące do homozygotyczności genów definiujących rasę, chów wsobny (tj. inbred) w sposób niezamierzony zwiększa częstość występowania i homozygotyczność alleli recesywnych wywołujących choroby. Warto zauważyć, że chów wsobny nie powoduje mutacji wywołujących choroby/wady dziedziczne, ale jedynie ujawnia ich obecność w puli genowej populacji w wyniku zwiększenia ich częstości. Nawet gdy do hodowli wybiera się pary, które nie są blisko ze sobą spokrewnione, jak w przypadku chowu wsobnego, to selekcja nakierowana na utrwalenie pożądanych cech [29, 36] w połączeniu z preferencyjnym wykorzystaniem wybranych osobników (efekt popularnego reproduktora) także przyczynia się do zmniejszenia zróżnicowania genetycznego w puli genowej danej rasy [29].

Jeśli pula genowa rasy jest utrwalona ze względu na określone allele, co oznacza, że wszystkie psy danej rasy mają tylko jeden rodzaj allela (układ homozygotyczny), który jest pożądany, takie utrwalenie uznaje się za korzystne dla danej rasy. Z kolei utrwalenie allelu powodującego chorobę jest szkodliwe dla zdrowia rasy. Choć nikt nie wybiera celowo alleli chorobowych, to stają się one częstsze w populacji z powodu dryfu genetycznego i selektywnego wymiatania, które to procesy opisano wcześniej. Kiedy szkodliwy allel zostanie utrwalony w obrębie rasy, to selekcja faworyzująca allel prawidłowy staje się niemożliwa, ponieważ w puli genowej danej rasy nie ma już takiego allelu. Przykładem takiej sytuacji są dalmatyńczyki: wszystkie są homozygotami ze względu na recesywny allel powodujący hiperurykemię (podwyższony poziom kwasu moczowego w surowicy

krwi) i hiperurykozurię (zwiększone wydalanie kwasu moczowego), w skrócie HUU, co predysponuje je do powstawania kamieni w pęcherzu moczowym. Ponieważ dalmatyńczyki nie posiadają innych alleli tego genu, hodowcy nie mogą prowadzić selekcji mającej na celu ograniczenie występowania tej choroby. Choć te same allele recesywne wywołujące HUU zidentyfikowano u innych ras, to nie są one w tych populacjach utrwalone, dlatego hodowcy mogą wykorzystać badania genetyczne i tak dobierać pary do kojarzeń, aby ograniczyć występowanie HUU [37]. Warto zauważyć, że wykrycie u dalmatyńczyków utrwalenia zmutowanego allelu HUU spowodowało, iż w 2011 r. American Kennel Club oraz Dalmatian Club of America zezwoliły na ostrożne wykorzystanie innej rasy w hodowli dalmatyńczyków w celu wprowadzenia prawidłowego allelu do puli genowej dalmatyńczyków.

Myśląc o rasie jako populacji, trzeba dostrzec cechy fizjologiczne należących do niej psów. Niektóre fenotypy, które są charakterystyczne i/lub definiują rasę, mogą bowiem wiązać się z wyższym ryzykiem rozwoju określonych chorób [38], zwłaszcza gdy w przeszłości sztuczna selekcja była przesadnie ukierunkowana na ich utrwalenie. Dobrym przykładem jest nietolerancja wysiłku i wysokich temperatur u ras brachycefalicznych wynikająca z uprzedniego nadmiernego koncentrowania się hodowców na pożądanym (skróconym) kształcie czaszki (więcej informacji na ten temat można znaleźć na stronie: https://www.akcchf.org/educational-resources/library/articles/articles/brachycephalic-research-shows.html). Jeśli w puli genowej danej rasy występuje zmienność genetyczna pozwalająca na złagodzenie poprzez selekcję skrajnego fenotypu, który może predysponować do rozwoju różnych chorób, hodowcy powinni skorzystać z takiej możliwości.

W celu poprawy ogólnego stanu zdrowia rasy można wykorzystać także testy genetyczne (o ile są dostępne), które pozwalają na prowadzenie stopniowej selekcji bez ryzyka znaczącego ograniczenia populacji, co mogłoby skutkować pojawieniem się omawianego wcześniej efektu „szyjki od butelki". Hodowcy psów powinni zwracać uwagę na szerszy kontekst, aby podejmowane przez nich decyzje miały pozytywny wpływ na całą populację. Dobierając pary do kojarzeń, należy myśleć nie tylko o tym, jak prezentują się cechy rasowe rodziców i ich potomstwa, ale również o poprawie struktury genetycznej całej populacji (rasy) i przyszłych pokoleń. Na przykład jeśli dany pies nie jest wykorzystywany w hodowli, żaden z alleli jego genów nie zostanie przekazany kolejnym generacjom, co może zawęzić pulę genetyczną alleli dostępnych w przyszłości. Wysiłki zmierzające do osiągnięcia pożądanych atrybutów rasy należy równoważyć troską o jej zdrowie, jednocześnie unikając decyzji mogących prowadzić do utraty zróżnicowania genetycznego w populacji (tj. zmniejszenia puli genów).

ROZDZIAŁ V

TESTY GENETYCZNE PSÓW

Hodowcy i właściciele dążą do zmaksymalizowania pożądanych cech i zminimalizowania cech niepożądanych lub negatywnie wpływających na zdrowie psa. Opracowano nawet listę setek cech pożądanych u psów. Więcej informacji na ten temat można znaleźć na stronie: https://wsava.org/committees/hereditary-disease-committee/ oraz https://omia.org/home/.

Gdy mamy do czynienia z cechami zależnymi od jednego genu, można wykorzystać szachownicę Punnetta do przewidzenia możliwych genotypów oraz wynikających z nich fenotypów u szczeniąt pochodzących od konkretnej pary rodziców. Jednak przewidywania oparte na szachownicy Punnetta wymagają znajomości genotypów rodzicielskich, co może być trudne, szczególnie w odniesieniu do cech dominujących, bo pies z taką cechą może być homozygotą dominującą lub heterozygotą. W takiej sytuacji ustalenie rzeczywistego genotypu bywa niemożliwe, przynajmniej do momentu, w którym nie uzyska się wystarczająco licznego potomstwa (z precyzyjnie opisanym fenotypem) danego osobnika lub nie zostanie opracowany test molekularny.

Z innym problemem mamy do czynienia, gdy cecha jest kontrolowana przez więcej współdziałających genów, co sprawia, że dokładne ustalenie genotypu jest trudne lub wręcz niemożliwe na podstawie obserwowanego fenotypu. Co więcej, niektóre cechy, zwłaszcza choroby, mogą pojawić się długo po osiągnięciu przez psa wieku rozrodczego, co nie pozwala na prowadzenie selekcji przeciwko takiemu genowi. Testy genetyczne umożliwiają precyzyjne określenie genotypu danego psa już w bardzo młodym wieku, a więc jeszcze zanim będzie on zdolny do rozrodu, co pozwala hodowcom na podjęcie przemyślanych decyzji dotyczących wykorzystania testowanych osobników w reprodukcji. Celem decyzji podejmowanych przez hodowców jest utrwalenie pożądanych cech i ograniczenie występowania cech niepożądanych.

Niektóre z obecnie dostępnych testów genetycznych wykorzystuje się do weryfikacji rodzicielstwa (tj. identyfikacji osobniczej), np. profil AKC DNA (więcej informacji tu: https://www.akc.org/breeder-programs/dna/dna-resource-center/dna-profile-program/). Inne testy służą do identyfikacji rasy, wykrycia alleli odpowiedzialnych za powstanie określonych fenotypów takich jak cechy umaszczenia lub wystąpienie ryzyka rozwoju jakiegoś fenotypu, zazwyczaj związanego z chorobą. Testy genetyczne mogą także ujawnić nosicielstwo niepożądanego allelu, czyli obecność układu heterozygotycznego, w którym występuje allel odpowiedzialny za powstanie fenotypu recesywnego. Takie psy nie wykazują fenotypu recesywnego (w tym choroby wywołanej przez allel recesyny), ale ponieważ mają genotyp heterozygotyczny – mogą przekazać allel recesywny potomstwu [39].

Testy bezpośrednie i pośrednie

Poznanie sekwencji DNA genu odpowiedzialnej za daną cechę daje możliwość opracowania bezpośredniego testu genetycznego, który służy do molekularnej identyfikacji danej mutacji. Testy genetyczne, które wykorzystują bezpośrednią analizę DNA, stwierdzają obecność określonego wariantu DNA, odpowiadającego za określony fenotyp. Testy bezpośrednie są bardzo dokładne, ponieważ określają, czy w DNA konkretnego psa występuje poszukiwana mutacja.

Jednak nie wszystkie geny i ich mutacje zostały opisane. W niektórych przypadkach znany jest jedynie region w genomie psa zawierający wariant odpowiadający za daną cechę lub chorobę, który

jest położony w sąsiedztwie wielu innych wariantów DNA. Ponieważ sekwencje DNA położone blisko siebie zwykle są dziedziczone razem, czyli są sprzężone, pośrednie testy DNA (oparte na sprzężeniu) polegają na badaniu wariantów genetycznych (markerów) sprzężonych z określonym fenotypem, co pozwala na przewidywanie, jaki wariant DNA odpowiedzialny za badaną cechę lub chorobę dziedziczną występuje u danego psa [40]. Przykładem takiego testu jest badanie pod kątem ataksji móżdżkowej u wyżłów włoskich szorstkowłosych. Badania pośrednie nie są w pełni dokładne, ponieważ rekombinacja podczas powstawania gamet może oddzielić sprzężony wariant markerowy od wariantu wywołującego chorobę (wariant przyczynowy). Z tego powodu testy oparte na sprzężeniu są mniej wiarygodne od testów bezpośrednich, które polegają na wykrywaniu mutacji sprawczej.

Z nielicznymi wyjątkami, obecnie dostępne testy genetyczne psów opierają się na analizie DNA. Do takiego badania można wykorzystać wymaz z jamy ustnej, próbkę śliny lub krwi, włosy z cebulkami czy nawet ścinki pazurów. Bez względu na to, jaką próbkę przekazano do laboratorium, z komórek zostaje wyizolowane DNA, które następnie poddaje się analizie.

Testy pojedyncze versus testy panelowe

Badania bezpośrednie i pośrednie mogą być wykonane jako badania pojedyncze, w przypadku których badany jest jeden fragment DNA, lub jako badania łączone, w których jednocześnie sprawdza się wiele fragmentów DNA. Odpowiednio określa się je jako singlepleks i multipleks. Zrozumienie, w jaki sposób wykonuje się testy genetyczne, ma kluczowe znaczenie. Tym niemniej, wszystkim zainteresowanym specyfiką oraz wyzwaniami związanymi z badaniami DNA zaleca się zapoznanie się z odpowiednimi publikacjami.

Badanie typu singlepleks najczęściej wykonuje się przy użyciu łańcuchowej reakcji polimerazy DNA (*polymerase chain reaction*, PCR). W badaniu PCR krótka sekwencja naprowadzająca, nazywana starterem (*primer*), precyzyjnie łączy się z konkretnym fragmentem chromosomu i jest wykorzystywana do stworzenia tysięcy kopii badanej sekwencji DNA. Taka amplifikacja (zwielokrotnienie) DNA jest konieczna do dokładnego określenia sekwencji DNA obecnej u konkretnego psa. Każde badanie pojedynczego genu wymaga specyficznie dobranych odczynników oraz określenia czasu reakcji i próbki DNA, w której będzie analizowana wybrana sekwencja [41].

Badanie typu multipleks także wykorzystuje metodę PCR, ale polega na równoległym prowadzeniu kilku reakcji. Badania typu multipleks (panelowe) mogą być bardziej efektywne pod kątem kosztów i czasu, ponieważ pozwalają na uzyskanie informacji o większej liczbie wariantów DNA przy zużyciu mniejszej ilości odczynników oraz pojedynczych próbek DNA. Badania multipleksowe są jednak trudniejsze do opracowania oraz walidacji, ponieważ wszystkie składniki niezbędne do wykonania indywidualnych badań muszą dobrze współgrać w ramach takiego testu. Startery dla każdej docelowej sekwencji chromosomowej muszą skutecznie działać niezależnie od siebie i nie kolidować ze sobą nawzajem. Błędy w projektowaniu starterów, które przyłączają się do niewłaściwego regionu chromosomu lub amplifikują więcej niż jeden wymagany fragment DNA, mogą być przyczyną uzyskania błędnych wyników. Co więcej, niektóre docelowe sekwencje chromosomów są łatwiejsze do powielenia niż inne, przez co odczynniki mogą zostać preferencyjnie zużyte na jedną z badanych sekwencji kosztem powielenia innych sekwencji docelowych, prowadząc do uzyskania wyników niekompletnych lub niedokładnych [42].

Alternatywą dla multipleksowych badań PCR, które upraszczają proces badań panelowych, jest technologia mikromacierzy oferowana przez wyspecjalizowane firmy. Pozwala ona na jednoczesne badanie setek tysięcy jednonukleotydowych wariantów DNA (tzw. snipów, SNP), zapewniając ich dokładną identyfikację [43]. Firmy komercyjne oferują badania wykorzystujące panele mikroma-

cierzowe oceniające setki mutacji, które są powiązane z określonymi cechami lub chorobami, podkreślając liczbę równocześnie prowadzonych testów. Mutacje objęte takim testem mogą być rygorystycznie zwalidowane naukowo lub włączone do procedury badawczej na podstawie niewielkiej liczby ostatnio opublikowanych badań w literaturze naukowej. Podobnie do tego, co obserwujemy w badaniach genetycznych ludzi, np. testy oferowane przez firmę 23&me lub inne testy adresowane bezpośrednio do klientów (*direct-to-consumer*, DTC), czy wielkoskalowe testy są atrakcyjne finansowo dla właścicieli lub hodowców psów, ponieważ dostarczają informacji o licznych cechach albo chorobach dziedzicznych, a także stwarzają warunki do wykrycia nowych wariantów sprawczych. Co więcej, tak samo jak u ludzi, niektóre firmy produkujące testy genetyczne dla psów oferują badania identyfikujące psy spokrewnione z testowanym osobnikiem.

ROZDZIAŁ VI

INTERPRETACJE WYNIKÓW TESTÓW DNA

Właściciel psa, który decyduje się na wykonanie testu DNA, powinien zdawać sobie sprawę z tego, jakie odpowiedzi może dzięki niemu uzyskać, w jaki sposób jego wyniki zostaną udostępnione oraz jak należy je interpretować. Wyniki testu DNA przekazywane przez większość laboratoriów zwykle zawierają genotyp psa dla badanego genu (genów) i/lub cechy (cech), interpretację genotypu, tzn. odpowiedź na pytanie, czy pies będzie przejawiał określony fenotyp, oraz jego zdolność do przekazania określonej cechy swoim potomkom. W większości przypadków terminologia stosowana w opisie wyników badań jest prosta i łatwa do zrozumienia. Dla cech fenotypowych takich jak umaszczenie wyniki badań DNA zwykle podają literowe skróty alleli i opis barwy włosa (np. genotyp B/B oznacza czarne umaszczenie oraz to, że tylko allel B będzie przekazany potomkom). W przypadku chorób dziedzicznych wynik badania może także być opisany skrótem literowym „N" dla cechy prawidłowej (normalnej), niekiedy małą literą „n" – zależnie od wykonującego badanie – a następnie literowym skrótem allelu chorobowego, np. N/HU dla heterozygotycznego psa, który posiada jeden allel prawidłowy, a drugi allel hiperurykozurii i hiperurykemii omówiony wcześniej. Warto wiedzieć, że skróty literowe wykorzystywane dla alleli tego samego genu mogą się różnić pomiędzy laboratoriami oraz producentami danego testu, a brak spójności w terminologii wprowadza nieraz dezorientację i zamieszanie. Raporty z badań mogą również zawierać informację o rzeczywistej zmianie wykrytej w DNA, np. insercji (INS) lub delecji (DEL).

Inna komplikacja dotycząca testów odnoszących się do umaszczeń wynika z różnych genów wpływających na daną cechę. Na przykład czarne umaszczenie psów może być spowodowane przez więcej niż jeden gen. Dominujący allel genu beta-defensyny 103 (*beta-defensin 103*, *CBD103*) zlokalizowany w chromosomie 16, określany również jako locus K, odpowiada za czarne umaszczenie. Niekiedy jest on nazywany „dominującą czernią", ponieważ gen K jest epistatyczny wobec innego genu o nazwie agouti. Allele genu agouti wpływają na wzory pasków we włosie, dając umaszczenie sobolowe lub czarne czy brązowe podpalane. W locus K allel K^B (czasem zaznaczany jako KB) jest w pełni dominujący. Jeśli pies posiada choćby jeden allel K^B, jego sierść będzie czarna, co zamaskuje efekt dowolnego allelu w locus agouti. Z kolei umaszczenie psa będącego homozygotą względem recesywnego allelu k^y zależy od genotypu w locus aguti. Test pozwala na uzyskanie informacji o locus K, a właściciel powinien rozumieć, w jaki sposób dany genotyp w tym locus współdziała z genotypami innych loci kontrolujących umaszczenie. Więcej informacji na ten temat można znaleźć na stronie internetowej dr Sheili Schmutz, emerytowanej profesor Uniwersytetu Saskatchewan, na której wyszczególniono geny determinujące umaszczenie oraz sposoby ich interakcji: http://munster.sasktelwebsite.net/DogColor/dogcolorgenetics.html.

Testy genetyczne chorób/wad dziedzicznych stają się coraz szerzej dostępne, jednak ich wyniki mogą być trudne do zrozumienia. Terminy takie jak „czysty", „nosiciel" oraz „obciążony" [chorobą] są często wykorzystywane w opisach wyników fenotypów chorób autosomalnych recesywnych. Wynik „czysty" oznacza, że pies posiada w badanym genie dwa allele dominujące, a jego fenotyp dominujący jest prawidłowy. Pies o takim genotypie może przekazać swoim szczeniętom jedynie prawidłowe, dominujące allele, dlatego żadne z jego szczeniąt nie będzie chore. Wynik „nosiciel" oznacza, że pies jest heterozygotyczny i posiada jeden allel dominujący i jeden allel recesywny.

Taki pies ma prawidłowy fenotyp dominujący, jednak może przekazać recesywny allel choroby w przybliżeniu 50% szczeniąt. Natomiast wynik „obciążony" oznacza, że pies jest homozygotą recesywną, tzn. posiada dwa allele recesywne i dlatego jest chory. Taki pies przekazuje allel recesywny wszystkim swoim potomkom. Choroby o niepełnej penetracji, a więc takie, w których tylko u części osobników posiadających genotyp odpowiedzialny za chorobę (np. homozygota recesywna) rozwiną się jej objawy, opisuje się z wykorzystaniem tych samych określeń. W takim przypadku nie wszystkie psy opisane jako „obciążone" będą przejawiać objawy choroby, ale ich wykorzystanie reprodukcyjne spowoduje przekazanie allelu chorobowego wszystkim szczeniętom.

Wyniki testu dotyczącego fenotypu autosomalnego dominującego psa mogą być opisane jako „czysty", „heterozygotyczny obciążony" lub „homozygotyczny obciążony". Dla dominującego fenotypu chorobowego psy o wyniku „czysty" są homozygotyczne recesywne, czyli nie mają dominujących alleli chorobowych i nie są zdolne do przekazania allelu wywołującego chorobę swoim szczeniętom. Pies z wynikiem „heterozygotyczny obciążony" ma dominujący fenotyp chorobowy, ponieważ posiada jeden dominujący allel odpowiedzialny za chorobę oraz jeden recesywny allel prawidłowy. Taki pies przekaże allel dominujący ok. 50% swoich szczeniąt, zaś pozostałe 50% otrzyma allel recesywny. Pies z wynikiem „homozygotyczny obciążony" posiada dwa dominujące allele chorobowe i ma dominujący fenotyp chorobowy. Przekaże także swojemu potomstwu wyłącznie dominujący allel chorobowy i dlatego każde ze szczeniąt będzie przejawiać dominujący fenotyp chorobowy [44]. Do opisania psa, który nie posiada żadnego allelu związanego z badanym fenotypem, zamiast określenia „czysty" stosuje się określenia „ujemny" lub „negatywny".

W przypadku badań cech recesywnych lub dominujących dziedziczonych w sposób mendlowski określenie „czysty rodzicielsko" dotyczy szczeniąt, których rodzice zostali zbadani genetycznie, a na podstawie uzyskanych wyników kategorycznie stwierdzono, że są wolni od mutacji chorobowej, zaś pochodzenie szczeniąt zostało zweryfikowane. Na przykład jeśli oboje rodziców danego miotu opisano jako psy „czyste" pod względem choroby recesywnej, to również całe ich potomstwo powinno być „czyste". W takim przypadku nie trzeba wykonywać badań genetycznych, aby to udowodnić.

Innymi często wykorzystywanymi terminami, które budzą niepokój wśród właścicieli psów i hodowców, są „zagrożony" lub „obarczony ryzykiem". Wynik badania DNA danego psa może wskazać, że jest „zagrożony" wystąpieniem choroby. Konkretnie oznacza to obecność alleli powiązanych z większym prawdopodobieństwem rozwinięcia choroby [45], jednak należy zaznaczyć, że ich obecność nie dowodzi z całkowitą pewnością czy (lub kiedy) pies rzeczywiście zachoruje. U pewnych psów, u których wykryto obecność alleli ryzyka, nigdy nie pojawią się żadne z objawów choroby. Może to dotyczyć genu o niepełnej penetracji, np. martwiczego zapalenia opon mózgowych (*necrotizing meningoencephalitis*, NME), znanego także jako zapalenie mózgu mopsów (*pug dog encephalitis*, PDE). Należy zaznaczyć, że choroby wieloczynnikowe zależą od wielu genów i czynników pozagenetycznych, dlatego badanie genetyczne może jedynie wskazać poziom ryzyka wystąpienia choroby, nawet jeśli bada się wiele genów. Jako przykład należy przywołać pierwszą taką diagnozę u psów dotyczącą określania ryzyka rozwoju zapalenia skórno-mięśniowego (*dermatomyositis*, DMS) u owczarków szetlandzkich i owczarków collie [46]. Zespół badaczy stworzył trzyetapowy test DNA, który jest przydatny w określaniu ryzyka, z jakim psy tych ras mogą zachorować na DMS. W oparciu o genotyp w trzech loci pies może zostać zaklasyfikowany do grupy o niskim, średnim lub wysokim ryzyku. Badanie pozwala na określenie wariantów genetycznych w trzech różnych miejscach genomu. Aby zapoznać się ze szczegółowym opisem choroby oraz sposobem, w jaki wyniki badania mogą być wykorzystane u pojedynczych osobników lub w celach hodowlanych, warto skorzystać ze strony internetowej American Shetland Sheepdog Association (https://www.americanshetlandsheepdogassociation.org/dermatomyositis/) lub wykładu dr Leigh Anne Clark wygłoszonego w ramach programu edukacyjnego dla Collie Health Foundation (ht-

tps://www.youtube.com/watch?v=hlFSqISfzek). Bardziej złożone przykłady wykorzystania badania ryzyka genetycznego u ludzi można znaleźć na stronie: https://www.youtube.com/watch?v=3Hj-HSRjwiQk.

Należy podkreślić, że złożona ocena ryzyka, jaką stanowi badanie ryzyka genetycznego, nie jest testem diagnostycznym, a dotyczy jedynie ryzyka szacowanego wyłącznie dla pojedynczego badanego psa. Co więcej, nawet gdy pies posiada zestaw alleli wysokiego ryzyka, to w zależności od jego genotypu w różnych loci szczenięta mogą mieć genotypy o niskim ryzyku choroby. Jest to natomiast dobry przykład dowodzący konieczności rozważenia wszystkich atrybutów psa przed podjęciem decyzji o jego wykorzystaniu reprodukcyjnym. Jeżeli pies posiada genotyp wysokiego ryzyka, ale jednocześnie wiele pożądanych cech, które może przekazać potomstwu, hodowca nadal może rozważyć wykorzystanie reprodukcyjne pod warunkiem takiego doboru do kojarzenia, który pozwoli na uzyskanie potomstwa z genotypem o niskim ryzyku rozwoju choroby.

ROZDZIAŁ VII

BADANIE RÓŻNORODNOŚCI

Wiedząc, że zróżnicowanie genetyczne ma kluczowe znaczenie dla dobrej kondycji i przetrwania gatunku [47, 48], hodowcy psów troszczyli się nie tylko o uzyskanie pożądanych cech oraz ograniczenie występowania ryzyka chorób genetycznych, ale także o utrzymanie zróżnicowania genetycznego i bogatej puli genowej w danej rasie. Analiza rodowodu oraz obliczanie współczynnika inbredu, wynikającego z chowu krewniaczego (wsobnego), są często wykorzystywane do oceny genetycznego zróżnicowania pojedynczego psa lub całej rasy. Obliczenie współczynnika inbredu zależy od głębokości dostępnego do analizy rodowodu, tj. od liczby pokoleń przodków wziętych pod uwagę w wyliczeniach. W przypadku ras wyprowadzonych z niewielkiej populacji założycielskiej wszystkie psy danej rasy są ze sobą spokrewnione w stopniu znacznym, o ile spojrzymy wystarczająco daleko wstecz.

Postęp umożliwił zastosowanie testów genetycznych do określenia rzeczywistego zróżnicowania psów, zastępując stosowanie jedynie współczynnika inbredu. W celu określenia zróżnicowania genetycznego danego psa i/lub danej rasy często wykorzystuje się warianty sekwencji DNA losowo rozprzestrzenione we wszystkich chromosomach tego gatunku. Badanymi wariantami mogą być polimorfizmy pojedynczego nukleotydu, czyli tzw. snipy (SNPs), lub tandemowe powtórzenia krótkich sekwencji nukleotydowych, nazywane krótkimi sekwencjami tandemowymi lub mikrosatelitarnymi (*short tandem repeats*, STR). Snipy lub STRy wykorzystywane w tych badaniach nie dają informacji o funkcji genu, lecz odzwierciedlają naturalną zmienność genomowych sekwencji DNA danego osobnika. Komercyjne firmy diagnostyczne mogą statystycznie oszacować zróżnicowanie genetyczne danego psa. Szacunki te opierają się na genetycznej bazie danych takiej firmy i opracowanych przez nią metodach obliczeniowych, które mogą pokazać ogólny poziom homozygotyczności badanych markerów i/lub zmienność w obrębie określonych genów (np. zaangażowanych w działanie układu odpornościowego). Dodatkowo w obliczenia może zostać włączona wiedza o homozygotycznych segmentach występujących u danego osobnika (nazywanych ciągami homozygotyczności), które odzwierciedlają fragmenty DNA odziedziczone w jednym bloku od wspólnych przodków. Długość takich segmentów DNA wskazuje na poziom inbredu, a im dłuższe i bardziej liczne w genomie są ciągi homozygotyczności, tym większy jest inbred, czyli efekt chowu wsobnego (krewniaczego).

Kiedy zmiany sekwencji DNA, czyli warianty genetyczne, są ze sobą sprzężone i dziedziczone blokowo, kombinację taką nazywa się haplotypem. Haplotypy mogą składać się z wariantów genetycznych znajdujących się w dowolnym obszarze chromosomu w obrębie konkretnego genu lub wielu genów. W rzeczywistości niektóre testy genetyczne wykorzystują haplotypy (czyli zestawy wariantów) w obrębie genu, aby określić, jaki allel danego genu występuje u konkretnego psa. Haplotypy mogą być współdzielone przez populacje pochodzące od wspólnych przodków, a ponieważ odzwierciedlają odcinki DNA dziedziczone łącznie w jednym bloku, można je wykorzystać do określenia pochodzenia psa od danych przodków. Na przykład haplotypy specyficzne dla rasy można wykorzystać do stwierdzenia, które rasy psów są reprezentowane w genotypie mieszańca. W badaniach tego typu można wykorzystać wiele regionów genomu psa, jednak szczególnym zainteresowaniem cieszą się geny głównego kompleksu zgodności tkankowej (*major histocompatibility complex*, *MHC*), nazywane także genami antygenów leukocytarnych psa (*dog leukocyte antygen*, *DLA*), a zwłaszcza geny klasy II *DLA*.

Zmienność w obrębie *MHC* ma kluczowe znaczenie dla odporności na różne patogeny. Układ zgodności tkankowej zawiera najbardziej polimorficzne geny występujące u kręgowców i dlatego uznaje się je za dobrze odzwierciedlające genetyczne zróżnicowanie w obrębie populacji. Geny *MHC/DLA* kodują białka niezbędne dla właściwego działania układu immunologicznego, a zróżnicowanie ich sekwencji ma największe znaczenie dla odporności na choroby i dobrej kondycji [50]. Geny *MHC* są skrajnie polimorficzne, co oznacza, że istnieje wiele różnych alleli każdego genu w ramach tego samego gatunku. W dużych, stabilnych populacjach zwierząt wolno żyjących zwykle obserwuje się duże zróżnicowanie genów *MHC*. Z kolei małe zróżnicowanie tych genów uznaje się za oznakę utraty różnorodności genetycznej, co można zaobserwować w populacjach gepardów lub słoni morskich, które doświadczyły efektu „wąskiego gardła", czyli drastycznego zmniejszenia liczebności populacji [51]. Efekt „wąskiego gardła" wystąpił także podczas tworzenia ras psów, z czego zdają sobie sprawę hodowcy. Przy ocenie polimorfizmu genów *MHC/DLA* szczególną uwagę poświęcono genom *DLA* klasy II, które są umiejscowione blisko siebie w chromosomie 12 i dlatego są dziedziczone łącznie jako blok haplotypowy. U ponad 150 ras psów zidentyfikowano więcej niż 200 haplotypów w regionie *DLA* klasy II, ale u większości ras cztery do pięciu najczęstszych haplotypów występuje z częstością wyższą niż 10%, a liczba różnych alleli *DLA* w puli genetycznej poszczególnych ras waha się od 3 [46] do 21 [52]. Negatywne konsekwencje nadmiernego chowu wsobnego (tj. depresji inbredowej) oraz wywołane przez niego zmniejszenie polimorfizmu *MHC* są nierozerwalnie splecione, jednak to, jakie znaczenie adaptacyjne (zwiększające szansę przeżycia) mają poszczególne warianty polimorficzne *MHC*, nie jest do końca jasne. Testy dotyczące polimorfizmu *MHC* w połączeniu z ogólnym badaniem zróżnicowania genetycznego są narzędziami informującymi hodowców o całkowitym zróżnicowaniu genetycznym ich psów. Wyniki testów należy brać pod uwagę podczas podejmowania decyzji o doborze par do kojarzeń. Podobnie jak działania minimalizujące chów wsobny, służy to zmaksymalizowaniu różnic pomiędzy genotypami rodziców [53].

ROZDZIAŁ VIII

RASOWO SPECYFICZNE TESTY GENETYCZNE

Wiele testów genetycznych zostało opracowanych dla konkretnych ras, co oznacza, że nie mają one uniwersalnego zastosowania w przypadku wszystkich psów. W niektórych przypadkach testy dotyczące choroby lub cechy opracowano tylko dla jednej rasy. Na przykład mutacja młodzieńczej postaci choroby Addisona (*juvenile Addison's disease*, JADD) jest specyficzna tylko dla retrieverów z Nowej Szkocji [54, 55], natomiast mutacja w genie fosfodiesterazy 6B (*PDE6B*), powodująca postępujący zanik siatkówki, jest specyficzna dla seterów irlandzkich [56]. W innych przypadkach tę samą mutację uznaje się za przyczynę choroby u wielu ras, a opracowany test genetyczny jest przydatny do badania psów wszystkich ras, w których dana choroba występuje. Przykładami takich testów są testy wykrywające występujące u wielu ras mutacje genu postępującego zwyrodnienia czopków i pręcików (*progressive rod-cone degeneration*, *PRCD*), które determinują późne wystąpienie postępującego zwyrodnienia siatkówki, a także mutacje genu oporności wielolekowej 1 (*multidrug resistance gene 1*, *MDR1*).

Niekiedy mutacje występują w wielu rasach, ale chorobę wywołują tylko u niektórych z nich. Mutacja genu białka współdziałającego z RPGR (*RPGR interacting protein 1*, *RPGRIP1*) jest powiązana z wczesnym wystąpieniem dystrofii czopków i pręcików (cord1) u miniaturowych jamników długowłosych [57]. Jednak wariant ten zidentyfikowano również u innych ras, które nie wykazują objawów choroby oczu, co sprawia, że znaczenie tej mutacji w przypadku innych ras jest niejasne. Co więcej, ostatnie wyniki badań wskazują, że również inne geny przyczyniają się do rozwoju tej choroby u jamników [58].

Innym przykładem jest mielopatia zwyrodnieniowa (*degenerative myelopathy*, DM). Tylko w kilku rasach, choć mutacja występuje w wielu, homozygotyczne psy ze względu na tę mutację wykazują zwiększone ryzyko zachorowania na DM [59]. Sytuację dotyczącą mielopatii zwyrodnieniowej dodatkowo komplikuje fakt, że choć jest ona dziedziczona autosomalnie recesywnie, to wykazuje niepełną penetrację. Z tego powodu nawet w rasach, w których test jest przydatny, może się okazać, że u psa homozygotycznego dla tej mutacji jedynie ryzyko wystąpienia choroby jest zwiększone, ale nie ma pewności jej wystąpienia. Zatem dwie kopie mutacji *SOD1* (DM/DM) dają wyższe ryzyko mielopatii zwyrodnieniowej, lecz nie wszystkie psy DM/DM różnych ras na nią zachorują. Dodatkowo część danych wskazuje, że u heterozygotycznych psów niektórych ras także może istnieć wyższe ryzyko tej choroby.

Mnogość informacji uzyskanych dzięki panelowemu badaniu genetycznemu może wprowadzić pewną dezorientację. Badania te dotyczą obecności wielu wariantów, niekiedy setek, różnych cech lub chorób. Jednak w przypadku mutacji wywołujących choroby charakterystyczne dla danej rasy nie są one przydatne w odniesieniu do innych ras, u których nie stwierdzono obecności danej mutacji. U niektórych ras psów mogą występować utrwalone prawidłowe allele, co sprawia, że tego typu testy nie będą miały u nich zastosowania. Psy mogą mieć także kompensujące warianty w innych genach, które przeciwdziałają skutkom testowanej mutacji [60]. Badania chorób genetycznych często dotyczą pojedynczej rasy, w której dana choroba występuje z wysoką częstością, a obecności samej mutacji nie stwierdzono w innych rasach lub nie była ona w ogóle analizowana.

Z tego powodu wyniki identyfikujące mutację chorobotwórczą u psa należącego do innej rasy lub mieszańca powinny być interpretowane z dużą ostrożnością.

Biorąc pod uwagę odmienne tło genetyczne poszczególnych ras, a więc to, że każda rasa ma specyficzną kompozycję alleli (pulę genową) oraz częstość ich występowania, należy podkreślić, że niektóre warianty genetyczne zachowują się różnie w różnych rasach. Jeśli test genetyczny został zwalidowany w jednej rasie, a następnie wykorzystany w innych rasach, to jego wyniki mogą nie być wiarygodne (prawdziwie dodatnie lub ujemne) w odniesieniu do danej choroby. Bez badań naukowych oraz walidacji testu w celu wykazania klinicznej istotności każdego testu dla określonej rasy raporty z wielkoskalowych badań panelowych mogą dawać właścicielom lub hodowcom informacje o mutacjach/chorobach, które de facto nie będą dotyczyły ich psa, ponieważ do wywołania choroby przez daną mutację może być konieczne specyficzne tło genetyczne (genotyp w innych loci). Właściciele podejmujący działania na podstawie takich informacji mogą wdrożyć leczenie, środki zapobiegawcze i badania diagnostyczne, które nie będą potrzebne, a nawet mogą być szkodliwe dla zwierzęcia [61–63].

Z drugiej strony znane są choroby, które wywołują różne mutacje, i z tego powodu dany test może dotyczyć jednej z wielu znanych mutacji przyczynowych. Na przykład u psów występuje wiele zespołów postępującej dystrofii siatkówki, za które odpowiadają różne mutacje przyczynowe charakterystyczne dla konkretnych ras, choć część z nich może występować w kilku rasach [56]. Jest to przykład specyficzności rasowej, która polega na tym, że określona choroba występuje w wielu rasach, ale jest spowodowana przez różne mutacje.

American Kennel Club (AKC) na swojej stronie internetowej wymienia poszczególne rasy (tu: https://www.akc.org/dog-breeds/page/2/). W ich opisach można znaleźć informacje dotyczące historii, charakterystyki cech danej rasy oraz – co ważne – link do narodowego klubu hodowców danej rasy. Na stronach internetowych tych klubów zwykle opisane są obszary zdrowia, które wydają się istotne dla danej rasy z uwzględnieniem chorób, dla których dostępne są testy genetyczne. Inną przydatna bazą danych jest Canine Health Information Center Program (CHIC) (https://ofa.org/chic-programs/browse-by-breed/), gdzie klub hodowców danej rasy określił minimalny program badań diagnostycznych, które należy wykonać u psa danej rasy. Dodatkowe bazy informacji są także dostępne na stronach:

- American Kennel Club
  https://www.akc.org/breeder-programs/breeder-education/breeding-resources/
- Canine Health Foundation
  https://www.akcchf.org/educational-resources/for-breeders/
  https://www.akcchf.org/canine-health/resources/

ROZDZIAŁ IX

ZASTOSOWANIE TESTÓW GENETYCZNYCH

Badania genetyczne są szeroko wykorzystywane przez właścicieli i hodowców zwierząt towarzyszących, ponieważ umożliwiają wgląd w pochodzenie rasy oraz pochodzenie mieszańców, możliwość zweryfikowania rodzicielstwa, dokładniejsze przewidywania nosicielstwa szkodliwych mutacji, lepsze zrozumienie aktualnego zróżnicowania genetycznego danej rasy oraz uzyskanie informacji o pożądanych cechach, takich jak umaszczenie czy zachowanie. W przypadku konkretnego psa testy genetyczne informują o podatności związanej z negatywną reakcją na leki, np. stosowane w leczeniu robaczycy sercowej (np. mutacje genu *MDR1*), a także pozwalają na ocenę potencjalnego rozmiaru dorosłego mieszańca. Zastosowanie testów genetycznych w odniesieniu do populacji danej rasy umożliwia podejmowanie decyzji hodowlanych, które mogą przyśpieszyć proces osiągnięcia przez hodowców poprawy pożądanych cech.

Otrzymane wyniki badań genetycznych należy oceniać z dużą ostrożnością. Wykrycie u psa mutacji odpowiedzialnej za chorobę dziedziczną nie musi oznaczać, że w ciągu swojego życia dany osobnik będzie wykazywał kliniczne objawy choroby. Właściciele powinni zrozumieć, że test genetyczny nie jest rozpoznaniem klinicznym. Może on jedynie wykazać, że pies ma predyspozycję do zachorowania na określoną chorobę lub do jej wystąpienia (ryzyko), a co za tym idzie – można spodziewać się wystąpienia objawów klinicznych. W podanym przykładzie mutacji genu *MDR1* wiedzę o jej obecności wykorzystuje się do unikania określonych leków. Należy jednak zaznaczyć, że z racji na recesywność lekotoksyczności pies posiadający jeden zmutowany allel genu *MDR1* (układ heterozygotyczny) nie jest narażony na szkodliwe działania leku. Tryb życia również ma wpływ na ujawnienie się choroby u psa z nieprawidłowym genotypem. Na przykład psy rasy labrador retriever mogą mieć mutację wywołującą zapaść spowodowaną przez wysiłek fizyczny (zapaść wysiłkowa, *exercise induced collapse*, EIC), jednak efekt taki może nigdy nie wystąpić, jeśli aktywność fizyczna zwierzęcia nie przekroczy poziomu niezbędnego do pojawienia się objawów klinicznych choroby [64]. Brak objawów klinicznych w tej sytuacji nie oznacza jednak, że badanie genetyczne było niedokładne (lub fałszywie dodatnie), ani że pies jest wolny od tej choroby i że nie przekaże mutacji swoim szczeniętom. W przypadku innych chorób w zależności od wieku ich ujawnienia, przebiegu oraz wpływu na jakość życia psa jego właściciel w porozumieniu z lekarzem weterynarii może opracować listę wskazówek dotyczących przyszłego postępowania terapeutycznego. Jak widać, wykorzystanie w praktyce wyników testów genetycznych jest dość skomplikowane.

W przypadku chorób o złożonym uwarunkowaniu testy genetyczne mogą wskazać na zagrożenie psa daną chorobą, jednak ryzyko lub predyspozycja genetyczna do danej choroby nie oznaczają jej nieuchronnego wystąpienia. Większość chorób złożonych zależy od wielu genów z małym efektem działania, przy czym czynniki genetyczne i środowiskowe decydują o tym, w jakim stopniu ryzyko wystąpienia choroby się urzeczywistni. Jak widać, styl życia może odgrywać istotną rolę w wystąpieniu objawów chorobowych u danego psa. Co więcej, zarówno właściciel psa, jak i lekarz weterynarii powinni zachować ostrożność, wykorzystując w praktyce wyniki testów genetycznych. W niektórych przypadkach objawy kliniczne różnych chorób mogą się na siebie nakładać. Choć może się zdarzyć, że wyniki testów będą wskazywały, że pies ma predyspozycje do konkretnej choroby, a prezentowane objawy kliniczne będą z nią spójne, to jednak w rzeczywistości objawy te będą

emanacją innej, zbliżonej choroby. W takiej sytuacji złe rozpoznanie może opóźnić zastosowanie właściwego leczenia faktycznej choroby.

Rozważne wykorzystanie testów genetycznych przy doborze par do kojarzeń może zmniejszyć częstość występowania w obrębie danej rasy lub populacji autosomalnych recesywnych chorób, które dziedziczone są w sposób mendlowski (tj. monogenowych) [64]. Kluczowe znaczenie ma tutaj rozwaga. Jeżeli zmutowany allel nie występuje często w populacji, a choroba jest ewidentnie szkodliwa, celem hodowcy powinno być planowanie takich kojarzeń, które zapobiegną urodzeniu chorych szczeniąt (homozygot recesywnych) lub zdrowych nosicieli mutacji (heterozygot). Jednak nadrzędnym celem ostrożnego wykorzystania testów genetycznych powinno być uniknięcie ograniczenia zmienności genetycznej i zasobności puli genowej, szczególnie w sytuacji częstego występowania w populacji allelu powiązanego z chorobą. Testy genetyczne należy wykorzystywać do utrzymania zdrowia psów danej rasy. Uzyskanie wiedzy, które psy posiadają allele chorobowe, przy świadomości długoterminowych celów hodowli, pozwala na **stopniowe** zmniejszanie częstości występowania alleli odpowiedzialnych za choroby danej rasy. Aby nie utracić ogólnej zmienności genetycznej rasy, można wykorzystać znakomitego psa będącego potwierdzonym nosicielem wadliwego allelu do krycia suki, u której w teście genetycznym względem tego allelu uzyskano wynik ujemny, co oznacza, że jest ona wolna od mutacji. Z takiego kojarzenia należy oczekiwać 50% szczeniąt wolnych od mutacji (**tab. 1**), przy zachowaniu bogactwa genetycznego wniesionego przez ojca będącego nosicielem allelu wywołującego chorobę. Do otrzymania następnego pokolenia można w takim przypadku wykorzystać wyłącznie szczenięta wolne od mutacji. Niekiedy, zwłaszcza u ras o niewielkiej liczebności i ograniczonej puli genowej, rozsądne może być nawet wykorzystanie do rozrodu osobnika dotkniętego mutacją/chorobą poprzez skojarzenie z osobnikiem wolnym od mutacji, czego efektem będzie uzyskanie 100% nosicieli w miocie, którzy mogą być wykorzystani do otrzymania kolejnego pokolenia. Celem takiego postępowania jest uniknięcie efektu „wąskiego gardła" w populacji i utrzymanie jej jak najwyższej zmienności genetycznej przy jednoczesnym zmniejszeniu częstości allelu chorobowego. Zachowanie zmienności genetycznej pozwala hodowcy na skuteczne troszczenie się o zdrowie genetyczne populacji, jak i konkretnych osobników. Należy podkreślić, że stosowanie selekcji genetycznej w odniesieniu do cech, które nie są istotne, i/lub ostra selekcja dotycząca cech istotnych są z punktu widzenia całej rasy bardzo szkodliwe.

W populacji psów jako całości lub w obrębie konkretnej rasy wyróżnia się wiele cech pożądanych oraz niepożądanych chorób, jednak liczba dostępnych testów genetycznych jest niewielka. Wszystkie zwierzęta posiadają szkodliwe mutacje, wśród których wiele w układzie homozygotycznym ma charakter letalny. Na przykład szacuje się, że każdy człowiek posiada 1–2 takie mutacje w układzie heterozygotycznym [65]. To, że niektóre z mutacji zostały zidentyfikowane, nie oznacza, że znane są wszystkie możliwe. Skupienie się na doborze par do kojarzenia opartym wyłącznie na wynikach dostępnych obecnie testów z pominięciem, innych cech ważnych dla danej rasy jest działaniem nierozważnym. Innymi słowy, przy wyborze osobników do kojarzenia należy rozważyć

Tabela 1. Prawdopodobieństwo pojawienia się w miocie szczeniąt chorych, zdrowych nosicieli oraz wolnych od choroby w oparciu o wyniki testu genetycznego obojga rodziców dla cech mendlowskich

	Ojciec – czysty	Ojciec – nosiciel	Ojciec – chory
Matka – czysta	wszystkie szczenięta – wolne	50% szczeniąt – wolne 50% szczeniąt – nosiciele	wszystkie szczenięta – nosiciele
Matka – nosicielka	50% szczeniąt – wolne 50% szczeniąt – nosiciele	25% szczeniąt – wolne 50% szczeniąt – nosiciele 25% szczeniąt – chore	50% szczeniąt – nosiciele 50% szczeniąt – chore
Matka – chora	wszystkie szczenięta – nosiciele	50% szczeniąt – nosiciele 50% szczeniąt – chore	wszystkie szczenięta – chore

wynik testów genetycznych w kontekście dobra danego psa oraz całej rasy. Rzadkością powinien być rozród ukierunkowany na jedną cechę przy pominięciu wszystkich pozostałych. Przykładem ilustrującym taką sytuację byłoby prowadzenie rozrodu tylko ze względu na wielkość pazurów. Podobnie niedorzeczne byłoby podejmowanie decyzji hodowlanych wyłącznie na podstawie wyników jednego testu genetycznego. Ma to szczególne znaczenie, gdy allele chorobowe bardzo często występują w danej rasie – wyeliminowanie wszystkich psów posiadających zmutowane allele, w tym nawet ich nosicieli, z populacji hodowlanej mogłoby zdziesiątkować rasę i zubożyć zmienność genetyczną, co w rezultacie spowodowałoby ekspansję innych chorób dziedzicznych. Całościowe wycofanie z rozrodu psów na podstawie wyników pojedynczego testu wyrządziłoby nieodwracalne szkody całej rasie poprzez zmniejszenie puli genów i/lub zwiększenie występowania innych alleli chorobowych, dla których testy genetyczne nie są dostępne [26, 66].

W przyszłości wyniki badań mogą mieć szersze zastosowanie, o ile będziemy dysponowali większą liczbą testów genetycznych wielogenowych, które pozwolą na oszacowanie ryzyka chorób u konkretnego psa. W chorobach o podłożu złożonym obecność allelu chorobowego oznacza jedynie ryzyko choroby, a nie to, że pies na nią zachoruje lub że allele ryzyka (tj. ryzyka choroby) zostaną przekazane kolejnym pokoleniom, jeśli ryzyko to opiera się na specyficznej kombinacji alleli wielu genów [46]. W dzisiejszym pełnym napięć i sterowanym przez mass media świecie, w którym często oczekuje się natychmiastowych i ostatecznych odpowiedzi, nawet przy niewłaściwym zastosowaniu lub nieprawidłowej interpretacji wyników badań, hodowcy i właściciele psów potrzebują przemyślanego i uzasadnionego podejścia, aby utrzymać ogólne zdrowie danej rasy. Obejmuje to ocenę jakości i kliniczną walidację testu, wykonującego go laboratorium, haseł reklamowych, częstości występowania danej cechy w populacji oraz efektu zdrowotnego określonej choroby. Na stronie: https://cgejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40575-015-0014-9 udostępniono publikację, w której omówiono wyzwania i strategie hodowlane w erze badań genetycznych.

ROZDZIAŁ X

DOSTAWCY TESTÓW GENETYCZNYCH ORAZ NADZÓR NAD TESTAMI GENETYCZNYMI

Dostawcy

W ciągu ostatniej dekady nastąpił znaczący rozwój dziedziny badań genetycznych u psów. Testy takie wykonano u setek tysięcy osobników. Powstały firmy komercyjne, które oferują multipleksowe badania panelowe umożliwiające równoczesną ocenę setek cech niezależnie od badanej rasy. Istnieją też firmy, które oferują zestawy bardziej wyspecjalizowanych pakietów badań genetycznych, koncentrujących się na określonych cechach/chorobach odpowiadających na potrzeby konkretnych hodowców określonych ras. Istnieją również laboratoria badawcze, które oferują wyspecjalizowane testy pojedynczych cech jako usługę skierowaną do hodowców i właścicieli psów. Powstały także niekomercyjne laboratoria powiązane z ośrodkami akademickimi, które oferują wachlarz rozmaitych testów genetycznych nakierowanych na pojedyncze cechy lub ich zestawy. W uzupełnieniu do badań określonych cech niektórzy dostawcy testów oferują analizy pochodzenia lub identyfikację rasy, potwierdzenie rodzicielstwa oraz badanie zmienności genetycznej. Niekiedy wyniki uzyskane z szeroko zakrojonych kompleksowych badań genetycznych umożliwiają wgląd w pochodzenie i zróżnicowanie psów.

Liczba laboratoriów oferujących badania genetyczne na świecie stale rośnie. Firmy komercyjne kierują się innymi względami ekonomicznymi niż podmioty niekomercyjne (non profit) i w celu zdobycia klientów często angażują się także w intensywne i przekonujące kampanie reklamowe. Różne sposoby działania firm oferujących testy genetyczne mają swoje zalety i wady. Cena, obsługa klienta, doradztwo genetyczne oraz sposób przekazania wyników testu może znacznie różnić się pomiędzy poszczególnymi firmami. Co istotne, znacznie zróżnicowany jest również poziom wsparcia merytorycznego zapewnianego klientom oraz doradztwo genetyczne dotyczące sposobu wykorzystania otrzymanych wyników. Podczas opracowywania niniejszego tekstu skontaktowaliśmy się z działami wsparcia klienta kilku firm oferujących testy genetyczne. W części z nich otrzymaliśmy rzeczywistą pomoc i rzetelne odpowiedzi na zadawane przez nas pytania, a w innych nie. Niektóre firmy oferują zindywidualizowane porady genetyczne, zaś inne kierują klientów do dokumentacji zamieszczonej na swoich stronach internetowych.

Właściciele psów powinni ocenić, jakie testy (więcej niekoniecznie znaczy w tej sytuacji lepiej) oraz jakie wsparcie są im rzeczywiście potrzebne, a także w jaki sposób dane dotyczące ich psów będą wykorzystywane przez wykonawcę testów i jak sami zamierzają wykorzystać otrzymane wyniki. Na przykład laboratorium naukowe, które wykryło badaną mutację, może być lepiej zaznajomione z drobnymi niuansami dotyczącymi badania, a także wykorzystywać wyniki kolejnych badań w celu poszerzenia wiedzy na temat znaczenia tej mutacji. Co więcej, niektóre firmy oferujące testy w ramach bezpośredniego kontaktu (*direct-to-consumer*) wykorzystują uzyskane wyniki badań w toczących się projektach badawczych oraz udostępniają właścicielowi wyniki dotyczące polimorfizmów SNP otrzymane w ramach dużego testowania panelowego, dzięki czemu właściciel dzieli się wynikami swojego psa z naukowcami prowadzącymi badania na całym świecie.

Właściciele powinni dobrze zapoznać się z tym, co oferuje dana firma, i zwrócić szczególną uwagę na aspekty prawne przeprowadzanych badań (zwłaszcza z informacjami dotyczącymi warunków wykorzystania i wykonania usługi, które precyzują, co ona zawiera, a czego nie). Wykorzystywane przez poszczególne firmy szczegółowe sformułowania, np. „pomoc w zidentyfikowaniu czynników ryzyka", „oszacowanie w dobrej wierze" oraz „nieprzeznaczone do diagnostyki, zapobiegania ani leczenia jakiejkolwiek choroby czy schorzenia bądź określenia stanu zdrowia", często są sprzeczne z rozpowszechnianymi reklamami lub formą przekazania wyniku.

Parametry testów

Efektywność i wiarygodność testów genetycznych zależą od jakości i dokładności przeprowadzenia wielu etapów procesu analitycznego, który rozpoczyna się od pobrania próbki w domu lub w gabinecie weterynaryjnym, a następnie obejmuje wysyłkę i sposób obchodzenia się z próbką na każdym etapie przedanalitycznym (np. czyszczenie narzędzi i maszyn, które mogą zanieczyścić próbkę), właściwe badanie (zanieczyszczenie odczynników reakcji PCR, urządzeń i skład odczynników analitycznych) oraz uwzględnia zanieczyszczenia środowiskowe obecne w laboratorium (np. aerozole) [67, 68]. Wyniki otrzymane od wykonawcy testu powinny być dokładne i precyzyjne. W idealnym przypadku wyniki próbki pobranej od psa wysłane do różnych laboratoriów powinny być takie same. Dokładność i powtarzalność wewnątrz laboratorium i pomiędzy laboratoriami wymaga spełnienia standardów referencyjnych i zaliczenia profesjonalnych testów kompetencji.

W USA w zakresie badań genetycznych prowadzonych u ludzi prawo do nadzoru i opracowania norm posiada Food and Drug Administration (FDA) oraz Centers for Medicare and Medicaid Services (CMS). Regulacje prawne dotyczą analitycznej akuratności wyniku (tj. tego, czy test jest dokładny, precyzyjny i powtarzalny), istotności klinicznej (a więc tego, czy zmiany DNA wykryte w badaniu odzwierciedlają prawdziwe ryzyko zdrowotne) oraz użyteczności klinicznej (czyli tego, czy wiedza uzyskana dzięki badaniu jest użyteczna klinicznie). Użyteczność kliniczna bezpośrednio zależy od wartości klinicznej testu. CMS nadzoruje laboratoria wykonujące badania genetyczne u ludzi dzięki specjalnemu procesowi certyfikacji (Clinical Laboratory Improvement Amendments, CLIA), który ocenia i weryfikuje wykorzystywane procedury analityczne, kwalifikacje personelu, a także dokładność badań. Dodatkowo American College of Medical Genetics and Genomics (ACMGG) publikuje standardy i wytyczne dla laboratoriów genetyki klinicznej [69].

Nadzór

Nadzór nad badaniami genetycznymi jest wyjątkowo trudny, ponieważ obszar genetyki podlega gwałtownemu rozwojowi, któremu towarzyszy szybkie tempo wprowadzania nowych badań. W USA firmy produkujące testy genetyczne dla ludzi, które są kierowane bezpośrednio do odbiorców (*direct-to-consumer*), podlegają nadzorowi. National Institute of Health (NIH) oraz FDA ostrzegają konsumentów, aby korzystali z usług firm posiadających certyfikat uzyskany w programie CLIA. Taka sama sytuacja („kliencie bądź ostrożny") istnieje na rynku firm i laboratoriów wykonujących badania genetyczne u psów, choć nie powołano urzędu, który nadzorowałby badania DNA psów ani programu zbliżonego do CLIA dla badań klinicznych lub kierowanych bezpośrednio do odbiorców. Obecnie nie istnieją konkretne wytyczne ani programy oceniające dotyczące kontroli/standaryzacji próbek oraz regularnej walidacji stosowanej procedury. Bez ujednoliconego nadzoru i kontroli jakości podmiotów zaangażowanych w testowanie genetyczne wyniki badań

mogą być błędne lub różnić się między laboratoriami, podczas gdy dokładność i kontrola ich jakości jest kluczowa dla ich właściwego wykorzystania w praktyce.

Wysiłki zmierzające do wypełnienia tej luki w nadzorze badań genetycznych u psów obejmują stworzenie dobrowolnych programów, w których mogą uczestniczyć producenci badań zgadzający się na wypracowanie pewnych standardów. W ostatnim czasie ukazała się publikacja definiująca zestaw procedur do wykorzystania w badaniach genetycznych psów oparty na standardach wykorzystywanych w badaniach człowieka [70]. International Society for Animal Genetics (ISAG) to profesjonalne stowarzyszenie, które oferuje swoim członkom możliwość dobrowolnego uczestnictwa w porównaniu wyników testów genetycznych DNA. Jego celem jest narzucenie standardów opracowania wyników badań, szczególnie testów weryfikujących rodzicielstwo, obowiązujących na całym świecie. W dostępnej bazie danych (Harmonization of Genetic Testing for Dogs) wymieniono te firmy zajmujące się wykonywaniem testów genetycznych psów, które dobrowolnie zgodziły się na spełnienie określonych standardów oraz wymianę informacji (https://dogwellnet.com/ctp/).

Nadzór nad procedurą testowania oraz specyficznością danego testu dla konkretnej rasy jest ważny w warunkach klinicznych oraz (może nawet bardziej) w kontekście reklamy testów DNA kierowanych bezpośrednio do właścicieli psów. Posiadanie zdrowego psa jest oczywistym celem każdego miłośnika tych zwierząt, a firmy oferujące testy wykorzystują media i presję społeczną do uzyskania jak największego wzrostu liczby wykonywanych testów. Należy jednak zaznaczyć, że bez zapewnienia odpowiedniego kontekstu i bez zrozumienia wyników testów, badania takie mogą mieć wiele niepożądanych efektów u konkretnego psa czy nawet całej rasy. Warto, aby właściciele psów zapoznali się z rekomendacjami dotyczącymi badań ludzkiego DNA kierowanych bezpośrednio do odbiorcy [71] oraz z informacjami zwrotnymi, które są niezbędne do właściwego zrozumienia otrzymanych wyników [72].

ROZDZIAŁ XI

OSTROŻNA INTERPRETACJA WYNIKÓW

Podobnie jak w przypadku niemal wszystkich usług, również w odniesieniu do interpretacji wyników testów genetycznych dotyczących zdrowia psów opracowano szereg wskazówek. Testy genetyczne, choć ważne zarówno dla psów czystych ras, jak i mieszańców, wymagają zrozumienia. Kluczowe znaczenie ma interpretacja wyników testów w kompleksowym kontekście zdrowia danego psa. Niektóre choroby są łatwe w leczeniu lub mają ograniczony wpływ na jakość życia psa, podczas gdy inne wymagają bardziej zdecydowanych interwencji. Zanim zostaną podjęte ważne decyzje dotyczące leczenia danej choroby lub jej zapobiegania, właściciel zwierzęcia powinien szukać pomocy u swojego lekarza weterynarii lub genetyka. Statystyczne prawdopodobieństwo oraz ryzyko **nie** oznaczają pewności. Podjęcie niewłaściwych decyzji w oparciu o niedokładne, niekompletne lub niewłaściwie zrozumiane informacje uzyskane dzięki testom genetycznym nie leży w dobrze pojętym interesie określonego psa lub rasy.

Jak już wspomniano, nie wszystkie badania genetyczne są istotne dla wszystkich psów. Tym niemniej, Canine Health Foundation wspólnie z dr Kate Meurs z Laboratorium Genetyki Weterynaryjnej Uniwersytetu Stanowego Karoliny Północnej, oferuje możliwość uzyskania porady genetycznej online (https://www.akcchf.org/educational -resources/genetics -counseling/genetic--counseling.html [aktualnie link ten nie działa – przyp. kons.]), a International Partnership for Dogs podejmuje wysiłki zmierzające do zapewnienia informacji dotyczących istotności konkretnych testów genetycznych dla różnych ras (https://dogwellnet.com/ctp/).

Co więcej, wiele badań naukowych jest nowych, a naukowcy ciągle dokonują kolejnych odkryć oraz weryfikują lub uzupełniają uzyskane wcześniej wyniki. Jako przykład można przywołać testy sprzężone, w których markery są powiązane z cechami. Choć same w sobie nie są one mutacjami przyczynowymi, to w zależności od bliskości loci tych markerów względem nieznanej, przyczynowej mutacji, proces rekombinacji genetycznej może rozerwać istniejące wcześniej sprzężenie i wyeliminować moc predykcyjną testu. Zamiana testu opartego na markerach sprzężonych na test wykrywający mutację sprawczą może podnieść czułość badania z przybliżonej (niekiedy bardzo dobrej) do bardzo dokładnej, co pozwoli zweryfikować wyniki testowania opartego na sprzężeniu. Może się również zdarzyć, że nowe badania naukowe wykażą (np. po przebadaniu większej liczby psów), iż mutacja podejrzewana o powodowanie określonej choroby w rzeczywistości będzie tylko jednym z wielu wariantów DNA wywołujących chorobę o złożonym uwarunkowaniu (poligenowym).

Należy także rozważyć to, że większość testów genetycznych wychodzi od statystycznego powiązania specyficznej sekwencji DNA z chorobą lub cechą. Jednak powiązanie nie zawsze jest równoznaczne z przyczynowością. Dążąc do wyposażenia właścicieli i hodowców w skuteczne narzędzia diagnozy, wyniki prac naukowców przekształcono w testy genetyczne przed właściwą walidacją kliniczną i zbadaniem związku przyczynowo-skutkowego. Wiele obecnie dostępnych testów genetycznych skierowanych do właścicieli psów i hodowców opiera się na badaniach o ograniczonym zasięgu i z tego powodu nie zostały one poddane wielorasowej walidacji [61]. Ostateczne potwierdzenie, że dana mutacja wywołuje chorobę może wymagać przebadania setek lub tysięcy psów, zasobów banków próbek DNA, a w niektórych przypadkach nawet celowego wywołania choroby (zwykle u myszy lub innego gatunku modelowego, gdyż celowe wywołanie

choroby u psa jest postrzegane jako nieetyczne przez stowarzyszenia zwierząt towarzyszących i większość hodowców).

Sporadycznie zdarza się również, że same wyniki testu nie są dokładne. Ze względu na zróżnicowaną wrażliwość lub przydatność próbki przekazanej do analizy, istnieje ryzyko otrzymania wyniku fałszywie dodatniego lub fałszywie ujemnego. Ponadto, jak wspomniano wcześniej, niektóre testy genetyczne są udoskonalane po objęciu badaniami większej liczby psów ze względu na daną cechę. Dzięki takiej zmianie uzyskuje się dokładniejszą charakterystykę danej cechy w konkretnej rasie, a co za tym idzie – dokładniejszy obraz zależności między daną mutacją, cechą i rasą. Opracowanie charakterystyki molekularnej ras wykorzystuje się do identyfikacji pochodzenia rasowego mieszańców. Przykładem zastosowania wiedzy na temat charakterystyki molekularnej ras jest wysłanie próbek (wymazy z policzka) pobranych od różnych mieszańców do firm oferujących usługę potwierdzenia rasy opartą na DNA. Każda firma wykorzystuje własne zastrzeżone algorytmy statystyczne oraz populacje referencyjne jako bazę do oszacowania udziału ras w przesłanej próbce. Dla poszczególnych próbek uzyskuje się zróżnicowane wyniki dotyczące identyfikacji sekwencji DNA pochodzących od różnych ras. W przypadku niektórych mieszańców z różnych firm uzyskano zgodny wynik, podczas gdy w przypadku innych psów wyniki te znacząco się różniły (omówienie tego badania oraz tabelę wyników można znaleźć na stronie: https://www.youtube.com/watch?v=kS0c-z7hR1Q). Podobny wynik uzyskano w badaniach pochodzenia ludzkiego DNA od przodków: każda z firm oferujących takie badanie korzysta z własnego wewnętrznego banku danych DNA, z którym porównuje się nową próbkę – a im większa jest referencyjna populacyjna baza danych, tym solidniejsze są powiązania [73, 74].

Ostrożności wymaga także sytuacja, w której właściciel otrzymuje wyniki testu panelowego, które wskazują, że jego pies jest ujemny dla ogromnej liczby analizowanych mutacji (zarówno tych istotnych, jak i nieistotnych dla danej rasy), co daje fałszywe przekonanie o jego stanie zdrowia. Pomijają one możliwość wystąpienia innych mutacji genetycznych, które mogą powodować tę samą chorobę. W jednym z niedawno opublikowanych artykułów w „Business Insider" (https://www.businessinsider.nl/embark-dog-dna-test-review/) określa taką sytuację w następujący sposób: „Okazało się, że Nellie uzyskała wynik ujemny we wszystkich testach. Możliwość wykluczenia tych mutacji sprawia, że wybrany przez was lekarz weterynarii będzie mógł łatwiej i dokładniej ocenić, co jest nie tak, jeśli pies zachoruje w przyszłości…". Świadomość braku niektórych mutacji wywołujących daną chorobę jest jedynie punktem wyjścia, ale niekoniecznie oznacza, że pies na nią nie zachoruje, ponieważ mogą istnieć nieznane mutacje, które także ją wywołują. Na przykład 62% szczeniąt retrieverów z Nowej Szkocji z rozszczepem podniebienia posiada mutację konkretnego genu, jednak nie zidentyfikowano jej u pozostałych szczeniąt z rozszczepem podniebienia [75]. U tej rasy musi występować inna, jeszcze niezidentyfikowana mutacja, która prawdopodobnie wywołuje rozszczep podniebienia. Jeszcze innym przykładem może być negatywny wynik u psa w kierunku jednej z chorób wywołujących drgawki, który nie powinien prowadzić właściciela do przekonania, że jego pies nie zachoruje na padaczkę. Wyróżnia się wiele możliwych przyczyn ataków drgawek i padaczki u psów (https://veterinarypartner.vin.com/default.aspx?pid=19239&id=4951440), przy czym niektóre z nich nie mają nawet podłoża genetycznego. Drgawki wywołane przez pewne toksyny lub leki mogą przypominać drgawki, których przyczyną jest choroba dziedziczna. Określa się je mianem fenokopii. Nawet w przypadku ludzi ocenia się, że ponad 900 różnych genów jest powiązanych z padaczką, a więc różne geny w podobny sposób mogą stać za fenotypami padaczkowymi u różnych pojedynczych psów i różnych psich ras.

W idealnej sytuacji właściciel może się zapoznać z oryginalnymi publikacjami naukowymi stanowiącymi fundament dla testów genetycznych, które zostaną wykonane u jego psa. Należy jednak pamiętać, że publikacje takie często posługują się żargonem naukowym, co utrudnia ich zrozumienie. Choć wiele redakcji czasopism medycznych prosi autorów o dodanie krótkiego popularnonau-

kowego podsumowania, które mógłby zrozumieć czytelnik niebędący specjalistą, to często zdarza się, że autorzy przesadnie akcentują swoje odkrycia w takich podsumowaniach, zaś w streszczeniu naukowym oraz w tekście publikacji są zdecydowanie bardziej ostrożni. Z tego powodu warto oczywiście przejrzeć cały tekst, a nie opierać się jedynie na przystępnych, uproszczonych wnioskach. Osoby gotowe stawić czoła takiemu wyzwaniu powinny zwrócić uwagę na pewne kluczowe fragmenty publikacji, aby upewnić się, że określony test genetyczny jest właściwy dla rasy, którą reprezentuje dany pies. Trzeba się upewnić, jaka rasa (lub rasy) została zbadana, ile psów włączono do badania, czy badane były obydwie płcie, skąd pochodziły psy (ze względu na różnice genetyczne między populacjami odległymi od siebie geograficznie), czy wyniki udało się potwierdzić w innej grupie psów oraz w jakim stopniu wyniki stanowią wyjaśnienie danego problemu (czyli np. czy zachorowały wszystkie psy z określoną mutacją).

ROZDZIAŁ XII

ZNACZENIE TESTÓW GENETYCZNYCH

Właściwe wykonanie i interpretacja testu genetycznego umożliwiają właścicielom psów odpowiedź na pytanie, czy u ich psa może się rozwinąć choroba dziedziczna. Jest to szczególnie istotne w przypadku chorób, które pojawiają się na późniejszym etapie życia lub w których zwiększony nadzór i diagnostyka kliniczna i/lub modyfikacja stylu życia bądź diety mogą poprawić jakość życia psa. Testy genetyczne umożliwiają hodowcom precyzyjne przewidywanie, czy testowany pies przekaże allele chorobowe swojemu potomstwu. Prawidłowe wykorzystanie testów genetycznych w chorobach autosomalnych recesywnych pozwoliło na zmniejszenie częstości ich występowania [64], co oznacza, że testy te można stosować w celu poprawy zdrowia całej rasy [76]. American Veterinary Medical Association (AVMA) we współpracy z American Animal Hospital Association (AAHA) rekomenduje wykonanie diagnostycznych testów genetycznych w wytycznych dotyczących prewencji chorób psów (https://www.avma.org/sites/default/files/resources/canineprevention guidelines_ppph.pdf), ponieważ zapewniają one „…lepszą edukację lekarzy weterynarii i hodowców, zaangażowanych w realizację programów hodowlanych zwierząt towarzyszących, w rozpoznawaniu i minimalizowaniu konsekwencji chorób dziedzicznych". World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) wymienia kilka ogólnych zasad, które należy wziąć pod uwagę przy stosowaniu testów genetycznych.

Inna potencjalna korzyść z wykonywania testów genetycznych wiąże się z tym, że producenci testów kierowanych bezpośrednio do odbiorcy mogą analizować wyniki badań psów w celu poszukiwania nowych mutacji sprawczych. Na przykład mutacja odpowiedzialna za niebieski kolor oczu husky syberyjskich została wykryta w wyniku analizy wyników właśnie takich testów [77]. Innym przykładem wykorzystania wyników badań genetycznych jest katalogowanie wariantów obserwowanych wśród psów czystorasowych oraz mieszańców [78], co może ułatwić wyjaśnienie, dlaczego niektóre choroby są specyficzne dla danej rasy, choć poszczególne mutacje są szeroko rozprzestrzenione również w innych rasach. Dodatkowo (jak już wspomniano) laboratoria naukowe, które wykryły daną mutację, mogą zebrać więcej informacji, jeśli badanie wykonano u większej liczby psów.

ROZDZIAŁ XIII

PRZYSZŁOŚĆ TESTOWANIA GENETYCZNEGO

Badania genetyczne psów najprawdopodobniej będą rozwijały się podobnie jak procedury stosowane u ludzi. W ciągu ostatniej dekady badania pojedynczych genów zastąpiono badaniami wielogenowymi i panelowymi. U ludzi testy panelowe obejmują geny powiązane z częstymi chorobami genetycznymi, takimi jak rak piersi czy cukrzyca. Testy panelowe psów też będą prawdopodobnie wykorzystywane do testowania genów powodujących określoną chorobę lub do opracowania paneli do testowania różnych chorób charakterystycznych dla danej rasy. Podobnie jak w medycynie człowieka, w miarę rozwoju badań chorób psów o złożonym (poligenowym) uwarunkowaniu i identyfikowania markerów podatności genetycznej na rozwój danej choroby, testy panelowe obejmą także określenie poligenowego ryzyka konkretnych chorób złożonych. Dla celów poradnictwa genetycznego psów zaproponowano już zastosowanie zaawansowanych analiz statystycznych służących ocenie ryzyka wystąpienia chorób [79].

W badaniach psów wykazano, że niektóre geny kompleksu zgodności tkankowej *MHC/DLA* mogą przyczyniać się do wzrostu ryzyka chorób autoimmunologicznych, takich jak DMS, cukrzyca typu I, symetryczna onychodystrofia toczniowa, limfocytarne zapalenie tarczycy (niedoczynność tarczycy) czy choroba Addisona [80–83]. Dalsze badania haplotypów *MHC/DLA* klasy II mogą wyjaśnić ich wpływ na rozwój choroby, co pozwoli na ich włączenie do niektórych wielogenowych paneli testowych oraz wykorzystanie w selekcji hodowlanej.

Niewykluczone, że szerokozakresowe panele SNP będą używane w przyszłości, jednak w innym celu niż obecnie. Specyficzne panele multipleksowe mogą na podstawie wiedzy o związku rozproszonych w całym genomie wariantów SNP ze zmiennością cech złożonych służyć do oszacowania wartości hodowlanej analizowanej cechy oraz prawdopodobieństwa przekazania jej potomstwu. Jednak zanim nastąpi komercjalizacja takich testów, konieczne jest objęcie badaniami naukowymi dużej liczby psów o znanych fenotypach i pochodzących z różnych środowisk, co pozwoli na ocenę dokładności testów w zakresie przewidywania wartości hodowlanej.

Następnie, zgodnie z wizją przyszłości medycyny człowieka, może stać się dostępna spersonalizowana medycyna psów, oparta na wiedzy o sekwencji genomowej konkretnego zwierzęcia, która będzie wykorzystana w sytuacji, gdy test panelowy nie przyniesie oczekiwanych informacji. Sekwencjonowanie całogenomowe polega na ustaleniu kolejności nukleotydów w DNA chromosomów tworzących cały genom danego osobnika. Trudność związana z zastosowaniem tej metody, podobnie jak u ludzi, polega na dużej zmienności międzyosobniczej sekwencji genomowej, która dotyczy głownie obszarów genomowych niebędących genami. Powoduje to, że niełatwo ustalić efekty lub znaczenie tych różnic. Innym wyzwaniem jest gromadzenie coraz większej liczby dowodów, że sekwencja DNA nie jest jedynym czynnikiem determinującym przekazywanie cech dziedzicznych. Epigenetyka koncentruje się na badaniu, jak czynniki niezawierające się w sekwencji DNA mogą wchodzić w interakcję z DNA w celu włączania lub wyłączania ekspresji określonych genów, i chociaż niektóre z tych czynników mogą być dziedziczone, to rzeczywista sekwencja DNA nie ulega zmianie, ale zmianie podlega sposób jej odczytu i wykorzystania.

Trzeba będzie przeprowadzić wiele badań, aby określić, w jaki sposób sekwencje genomowe wpływają na wiele cech psa, przy czym badania te muszą także brać pod uwagę kontekst środowi-

skowy, taki jak: jak dieta, aktywność fizyczna, geografia, zanieczyszczenia wody i powietrza, mikrobiom (obszar bardzo intensywnych badań) oraz obecność modyfikacji epigenetycznych. Zanim ten bardzo złożony cel zostanie osiągnięty, na pewno będziemy mieli jeszcze do czynienia z kolejnymi odkryciami dotyczącymi związku pomiędzy określonymi genami/loci a determinowanymi przez nie cechami.

ROZDZIAŁ XIV

UWAGI KOŃCOWE

Badania genetyczne są niezmiernie cenne i powinny być wykorzystywane do poprawy zdrowia psów. Ostrożni i odpowiedzialni miłośnicy psów chcą dla swoich ukochanych towarzyszy zrobić to, co najlepsze, ale pragnienie osiągnięcia natychmiastowych zmian nie powinno przesłonić uważnej interpretacji i zrozumienia wyników testów genetycznych. Nadużycie lub niewłaściwe użycie testów genetycznych może prowadzić do zmniejszenia zmienności genetycznej w danej rasie, jeśli częstość występowania alleli chorobowych jest wysoka, a wszyscy nosiciele choroby (zdrowe osobniki heterozygotyczne) zostaną wycofani z populacji hodowlanej. Chcąc pozbyć się niepożądanych, szkodliwych chorób, nie można tego zrobić zbyt szybko, aby nie spowodować wzrostu częstości innych chorób, szczególnie takich, dla których nie są dostępne testy diagnostyczne [26, 66]. Podczas wykonywania badań oceniających zmienność genetyczną należy zadbać o to, aby była postrzegana w kontekście innych cech psa. Wszystkie psy przenoszą allele chorobowe, co stanie się jeszcze bardziej oczywiste, gdy będzie dostępnych więcej testów diagnostycznych. Ekspansja testów genetycznych wymaga bardziej kompleksowego spojrzenia na wdrożenie i wykorzystanie określonego testu genetycznego, zarówno w kontekście zdrowia konkretnego psa i całej rasy, do której należy, jak i doboru par do kojarzeń.

SŁOWNIK POJĘĆ

- **ALLEL** – wersja lub postać genu bądź locus (nazwę tę stosuje się również dla markera genetycznego niezwiązanego z genem)
- **ALLEL RYZYKA** – allel, który jest powiązany ze zwiększonym prawdopodobieństwem wystąpienia u danego osobnika określonej choroby genetycznej
- **AUTOSOM** – chromosom, który nie jest chromosomem płci. Pies posiada 38 par autosomów, podczas gdy człowiek ma 22 pary autosomów
- **AUTOSOMALNY DOMINUJĄCY** – sposób dziedziczenia cechy kontrolowany przez gen umiejscowiony w jednym z autosomów (chromosomów autosomalnych), gdy obecność jednego allelu dominującego wystarcza do powstania fenotypu kontrolowanego przez taki allel. Psy posiadające jeden lub dwa takie allele (czyli odpowiednio heterozygotyczne lub homozygotyczne dominujące) wykazują fenotyp dominujący
- **CECHA** – właściwość [np. fizyczna lub behawioralna] organizmu, która jest determinowana przez gen(y) i/lub na którą wpływają czynniki środowiskowe
- **CECHA WIELOGENOWA** – właściwość [np. fizyczna lub behawioralna] bądź choroba wywoływana przez więcej niż jeden gen
- **CHÓW WSOBNY** – kojarzenie blisko spokrewnionych ze sobą osobników powodujące zwiększoną homozygotyczność oraz obniżenie zmienności genetycznej w potomstwie. Hodowla na linię jest odmianą chowu wsobnego, w której osobniki są ze sobą spokrewnione w mniejszym stopniu
- **CHROMOSOM** – struktura składająca się z długiej cząsteczki DNA i białek. U psów (podobnie jak u innych ssaków) chromosomy występują parami, w których każdy chromosom w parze pochodzi od innego rodzica. Psy posiadają 39 par chromosomów (38 par autosomów oraz 1 parę chromosomów płciowych) [diploidalna liczba chromosomów (2n) wynosi 78]
- **CHROMOSOM PŁCI** – jedna z par chromosomów, która determinuje płeć danego osobnika; psy posiadające dwa chromosomy XX są płci żeńskiej, a psy posiadające jeden chromosom X i jeden chromosom Y są płci męskiej
- **CIĄGI HOMOZYGOTYCZNOŚCI** – odcinki sekwencji DNA, które występują w układzie homozygotycznym, ponieważ dany osobnik odziedziczył tę samą sekwencję [ciąg, odcinek] od obydwojga rodziców, co wskazuje na pochodzenie tego odcinka od wspólnego przodka; dłuższe sekwencje homozygotyczne są wynikiem chowu wsobnego
- **DELECJA** – nieprawidłowe usunięcie nukleotydu/ów z sekwencji DNA podczas replikacji DNA. W opisie wyniku testu DNA obecność delecji może zostać opisana skrótem DEL
- **DEPRESJA INBREDOWA** – obniżona kondycja/żywotność biologiczna populacji spowodowana kojarzeniami krewniaczymi oraz wynikające z tego zmniejszenie zmienności genetycznej
- **DIPLOIDALNY** – komórka lub organizm posiadający dwie kopie każdego chromosomu, po jednej od każdego z rodziców [oznaczana jako 2n]
- **DNA** – skrót nazwy kwasu deoksyrybonukleinowego, zawierającego informację genetyczną zapisaną w postaci sekwencji nukleotydów, która zapewnia instrukcję dla określonych cech danego osobnika
- **DOG LEUKOCYTE ANTYGEN (*DLA*)** – odpowiednik u psa głównego kompleksu zgodności tkankowej (*major histocompatibility complex*, *MHC*). Zobacz także: główny kompleks zgodności tkankowej

- **DOMINUJĄCY** – allele dominujące prowadzą zawsze do ujawnienia się skojarzonego z nimi fenotypu
- **DRYF GENETYCZNY** – zmiany częstości alleli w populacji wywołane losowością doboru zwierząt do kojarzeń (w odróżnieniu od doboru sztucznego lub naturalnego) [proces ten jest charakterystyczny w małych populacjach]
- **DZIEDZICZENIE** – przekazywanie potomstwu przez rodziców materiału genetycznego oraz powiązanych z nim cech
- **DZIEDZICZENIE MENDLOWSKIE, MONOGENOWE** – dziedziczenie cech zależnych tylko od pojedynczego genu
- **DZIEDZICZENIE MITOCHONDRIALNE** – cechy kontrolowane przez geny zlokalizowane w obrębie DNA mitochondrialnego. U ssaków mitochondrialny DNA jest dziedziczony wyłącznie od matki
- **DZIEDZICZENIE WIELOGENOWE** – dziedziczenie cechy kontrolowanej przez więcej niż jeden gen
- **DZIEDZICZENIE ZŁOŻONE** – cechy lub choroby kontrolowane przez wiele genów oraz zależne od wpływu czynników środowiskowych. Cechy złożone nazywane są także wieloczynnikowymi
- **EPIGENETYCZNY** – termin odnosi się do czynników spoza sekwencji DNA [np. metylacja cytozyn w DNA], które oddziałując ze strukturą DNA, mogą włączać lub wyłączać [ekspresję] genu
- **EPISTAZA** – interakcja między genami [z różnych loci], często kojarzona z bardziej skrajnymi przypadkami, gdy fenotyp warunkowany przez jeden gen zostaje całkowicie zamaskowany lub ukryty przez inny, niezależnie dziedziczony gen
- **FENOKOPIA** – fenotyp wywoływany czynnikami środowiskowymi (np. lekiem), który jest zbliżony do fenotypu będącego rezultatem określonego genotypu
- **FENOTYP** – fizyczna, obserwowalna i/lub mierzalna charakterystyka cechy
- **GAMETA** – męska (plemnik) lub żeńska (jajo) komórka rozrodcza zawierająca tylko jedną kopię każdego chromosomu; uczestniczy w procesie zapłodnienia podczas rozmnażania płciowego
- **GEN** – fragment DNA w chromosomie, który zawiera instrukcję produkcji określonego, specyficznego białka [lub niekodującej cząsteczki RNA]. Geny determinują rozwój poszczególnych cech
- **GENOM** – organizacja całego materiału genetycznego danego osobnika (tzn. DNA), który zapewnia instrukcję budowy oraz działania organizmu
- **GŁÓWNY KOMPLEKS ZGODNOŚCI TKANKOWEJ** – grupa wysoce polimorficznych genów ważnych dla właściwego działania układu odpornościowego (*major histocompatibility complex*, *MHC*). Wysoka zmienność tych genów wiąże się ze zwiększoną zdolnością do zwalczania infekcji. W przypadku psa stosuje się termin antygen leukocytarny psa (*dog leukocyte antigen*, *DLA*)
- **HAPLOID** – komórki posiadające jedynie jedną kopię każdego chromosomu
- **HAPLOTYP** – zestaw wariantów genetycznych dziedziczonych wspólnie, pochodzących od jednego z rodziców
- **HETEROZYGOTA, HETEROZYGOTYCZNY** – osobnik posiadający dwa różne allele genu lub locus
- **HETEROZYGOTYCZNA PRZEWAGA** – genotyp heterozygotyczny, który odpowiada za lepszą kondycję osobnika/rasy niż alternatywne genotypy homozygotyczne
- **HOMOZYGOTA, HOMOZYGOTYCZNY** – osobnik posiadający dwa identyczne allele genu lub locus
- **INBRED** – zobacz: chów wsobny
- **INSERCJA** – błędne dodanie nukleotydu(ów) do sekwencji DNA podczas replikacji. W wyniku testu DNA insercja może zostać opisana skrótem INS
- **INTERAKCJA, ODDZIAŁYWANIE GENÓW** – interakcja między genami, w której prezentowany fenotyp konkretnej cechy podlega wpływowi alleli różnych genów

- **KODOMINACJA** – zjawisko, w którym obydwa allele u osobnika heterozygotycznego nie są ani dominujące, ani recesywne, a fenotypowo widoczna jest jednoczesna ekspresja kodowanych przez nie cech
- **KONDYCJA** – zdolność pojedynczego osobnika lub całego gatunku do przeżycia i rozrodu w jego aktualnym środowisku
- **LOCUS** – miejsce genu, segmentu DNA lub badanego regionu w chromosomie
- **ŁACIATOŚĆ** – umaszczenie polegające na obecności losowo rozmieszczonych białych plam
- **ŁAŃCUCHOWA REAKCJA POLIMERAZY (POLYMERASE CHAIN REATION, PCR)** – metoda biologii molekularnej wykorzystywana do uzyskania wielu kopii określonego fragmentu DNA
- **MARKER GENETYCZNY** – sekwencja DNA lub pojedynczy nukleotyd o znanej fizycznej lokalizacji w chromosomie, która jest związana z określonym fenotypem
- **MERLE** – umaszczenie występujące u niektórych ras psów charakteryzujące się losowym występowaniem plam jednolitej barwy przeplecionych z jaśniejszym kolorem sierści tworzący efekt zbliżony do wyglądu marmuru
- **MUTACJA** – każda utrwalona zmiana w sekwencji DNA danego osobnika, która tworzy zmienność genetyczną
- **MUTACJA PRZYCZYNOWA LUB WARIANT** – zmiana genetyczna, która powoduje zmianę fenotypu
- **NIEPEŁNA DOMINACJA** – cechy, które u osobnika heterozygotycznego tworzą mieszaninę (lub melanż) fenotypów determinowanych przez każdy z alleli
- **NIEPEŁNA PENETRACJA** – cechy lub choroby, w przypadku których tylko część osobników o danym genotypie ma skojarzony z nim fenotyp
- **NOSICIEL** – osobnik, który jest heterozygotyczny względem allelu recesywnego i z tego powodu nie prezentuje recesywnego fenotypu, ale przekazuje allel recesywny około 50% swoich potomków
- **NOSICIEL OBLIGATORYJNY** – pies, który nie był testowany genetycznie, ale o którym wiadomo, że przekazuje potomstwu allele recesywne cechy mendlowskiej (monogenowej), ponieważ ma obciążonego cechą recesywną rodzica lub jest rodzicem szczenięcia obciążonego chorobą, które pochodzi z kojarzenia ze zdrowym osobnikiem
- **NUKLEOTYD** – podstawowa jednostka budowy cząsteczki DNA
- **OBCIĄŻONY [CHOROBĄ]** – osobnik wykazujący niepożądaną cechę lub chorobę
- **OGRANICZONA DO PŁCI** – cecha, która może wystąpić jedynie u jednej z płci (żeńskiej lub męskiej), nawet jeśli gen, który ją kontroluje, występuje u obu płci
- **PENETRACJA** – odsetek osobników o określonym genotypie, które rzeczywiście wykazują fenotyp z nim powiązany
- **PLEJOTROPIA** – pojedynczy gen wpływający na dwie lub więcej różnych cech
- **POLIMORFIZM POJEDYNCZEGO NUKLEOTYDU (SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM, SNP, TZW. SNIP)** – zmiana lub różnica pojedynczego nukleotydu w sekwencji DNA. Często wykorzystywana jako markery DNA
- **POPULARNY REPRODUKTOR** – samiec intensywnie wykorzystywany w reprodukcji. W efekcie w następnych pokoleniach obserwuje się wysoki udział jego informacji genetycznej
- **PRAWDOPODOBIEŃSTWO** – matematyczne obliczenie szansy na wystąpienie określonego zdarzenia lub fenotypu
- **PULA GENÓW** – cały zbiór alleli genów istniejący w danej populacji lub gatunku
- **RASA** – grupa udomowionych zwierząt pochodzących od wspólnych przodków, które są do siebie podobne pod względem większości cech
- **RECESYWNY** – allel, którego fenotyp jest zamaskowany przez dominujący allel tego samego genu; fenotyp recesywny ujawnia się jedynie w obecności dwóch kopii allelu recesywnego

- **REKOMBINACJA** – rearanżacja materiału genetycznego, do której dochodzi podczas formowania się gamet [podczas mejozy]. Jest ważnym mechanizmem kreowania zmienności genetycznej w obrębie gatunku
- **RODOWÓD** – usystematyzowany wykaz przodków danego osobnika
- **ROZRÓD (KOJARZENIE)** – kojarzenie psa i suki tego samego gatunku w celu uzyskania potomstwa
- **RÓŻNORODNOŚĆ** – zróżnicowanie genetyczne odnosi się do zmienności cech dziedzicznych w obrębie gatunku lub liczby różnych cech determinowanych genetycznie w danym gatunku
- **SEKWENCJA** – uporządkowane ułożenie nukleotydów w DNA; geny to określone sekwencje, które zawierają instrukcję produkcji określonego białka [lub niekodujących cząsteczek RNA]
- **SELEKCJA HODOWLANA** – wybór par do kojarzeń w celu wzmocnienia i/lub wyeliminowania określonego fenotypu lub choroby w przyszłych pokoleniach. Nazywana jest również sztuczną selekcją
- **SELEKCJA NATURALNA** – odnosi się do przetrwania i rozrodu osobników [naturalny dobór par do kojarzeń], które są lepiej zaadaptowane do aktualnego środowiska naturalnego
- **SELEKCJA SZTUCZNA** – proces, w którym człowiek identyfikuje pożądane cechy u zwierząt lub roślin, a następnie wybiera pary do kojarzenia, które wykazują takie cechy. Dzięki temu będą one przekazane kolejnym pokoleniom
- **SELEKCJA ZRÓWNOWAŻONA** – ma miejsce, gdy allele z serii alleli wielokrotnych występują w populacji z częstością wyższą niż oczekiwana ze względu na przenoszone korzyści w różnych warunkach środowiskowych. Typową tego przyczyną jest korzyść związana z genotypem heterozygotycznym
- **SPRZĘŻENIE** – fizyczne sąsiedztwo genów lub innych segmentów DNA w tym samym chromosomie; z powodu sprzężenia geny te zwykle dziedziczone są wspólnie
- **SPRZĘŻONY Z PŁCIĄ** – cecha kontrolowana przez gen znajdujący się na chromosomie płciowym [zazwyczaj dotyczy to genów położonych w chromosomie X]
- **SPRZĘŻONY Z X** – cecha kontrolowana przez gen, którego locus znajduje się w chromosomie X.
- **SPRZĘŻONY Z Y** – cecha kontrolowana przez gen, którego locus znajduje się w chromosomie Y
- **STARTER (PRIMER)** – krótki fragment sekwencji DNA [sekwencja oligonukleotydowa] wykorzystywany w metodzie PCR, określający punkt startowy sekwencji DNA, która ma być kopiowana
- **UDOMOWIENIE** – proces adaptacji danego organizmu/gatunku do przeżycia i egzystencji w środowisku kontrolowanym przez człowieka
- **UTRWALENIE [GENU]** – sytuacja, w której w populacji lub w rasie istnieje wyłącznie jeden allel danego genu
- **WARIANT** – pojedynczy nukleotyd lub sekwencja nukleotydów, która odróżnia się od sekwencji genomowej wykorzystywanej jako punkt odniesienia (genom referencyjny)
- **WĄSKIE GARDŁO POPULACYJNE [OKREŚLANE RÓWNIEŻ JAKO SZYJKA OD BUTELKI]** – drastyczne zmniejszenie liczebności osobników w populacji, które przekazują swój materiał genetyczny kolejnym pokoleniom, co skutkuje zmniejszeniem zmienności genetycznej przyszłej populacji
- **WNĘTROSTWO** – sytuacja, w której jedno lub dwa jądra nie zstąpiły z jamy brzusznej do moszny
- **WYMIATANIE SELEKTYWNE** – proces dotyczący cech dziedziczonych wspólnie, ponieważ loci kontrolujących je genów znajdują się blisko siebie w chromosomie (są sprzężone)
- **ZAPŁODNIENIE** – proces połączenia gamety żeńskiej i gamety męskiej, który daje początek nowemu organizmowi [powstaje zygota]
- **ZMIENNA EKSPRESYWNOŚĆ** – różne przejawianie się danej cechy lub choroby u osobników o takim samym genotypie
- **ZYGOTA** – komórka powstała w wyniku zapłodnienia gamety żeńskiej (komórki jajowej) przez gametę męską (plemnik), z której rozwinie się płód

BIBLIOGRAFIA

1. Cooper G.M., *The Cell: A Molecular Approach*, 2nd edn. Sunderland, MA: Sinauer Associates 2000.
2. Lindblad-Toh K., Wade C.M., Mikkelsen T.S., Karlsson E.K., Jaffe D.B., Kamal M., Clamp M., Chang J.L., Kulbokas E.J., Zody M.C. et al., *Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog*, „Nature" 2005, 438(7069):803-819.
3. Memon M.A., *Common causes of male dog infertility*, „Theriogenology" 2007, 68(3):322–328.
4. Zhao X., Onteru S., Saatchi M., Garrick D., Rothschild M., *A genome-wide association study for canine cryptorchidism in Siberian Huskies*, „Journal of Animal Breeding and Genetics" 2014, 131(3):202–209.
5. Clark L.A., Wahl J.M., Rees C.A., Murphy K.E., *Retrotransposon insertion in SILV is responsible for merle patterning of the domestic dog*, „Proceedings of the National Academy of Sciences" 2006, 103(5):1376–1381.
6. Case L.P., *Genetics and Breeding Programs*, [w:] *The Dog: its Behavior, Nutrition, and Health,* 2nd edn., Iowa: Iowa State Press 2005.
7. Frischknecht M., Niehof-Oellers H., Jagannathan V., Owczarek-Lipska M., Drögemüller C., Dietschi E., Dolf G., Tellhelm B., Lang J., Tiira K. et al., *A COL11A2 Mutation in Labrador Retrievers with Mild Disproportionate Dwarfism*, „PLoS ONE" 2013, 8(3):e60149.
8. Becker D., Minor K.M., Letko A., Ekenstedt K.J., Jagannathan V., Leeb T., Shelton G.D., Mickelson J.R., Drögemüller C., *A GJA9 frameshift variant is associated with polyneuropathy in Leonberger dogs*, „BMC Genomics" 2017, 18(1):662.
9. Schmutz S.M., Berryere T.G., Dreger D.L., *MITF and White Spotting in Dogs: A Population Study*, „Journal of Heredity" 2009, 100(suppl_1):S66–S74.
10. Karlsson E.K., Baranowska I., Wade C.M., Salmon Hillbertz N.H.C., Zody M.C., Anderson N., Biagi T.M., Patterson N., Pielberg G.R., Kulbokas E.J. et al., *Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association*, „Nature Genetics" 2007, 39(11):1321–1328.
11. Ostrander E.A., Ruvinsky A., *The genetics of the Dog*, CABI 2012.
12. *NIH-Talking Glossary of Genetic Terms* [https://www.genome.gov/genetics-glossary].
13. Singh A., *Complex Traits*, [w:] Gellman M.D., Turner J.R., *Encyclopedia of Behavioral Medicine,* NY: Springer New York 2013: 478–479.
14. Hayward J.J., Castelhano M.G., Oliveira K.C., Corey E., Balkman C., Baxter T.L., Casal M.L., Center S.A., Fang M., Garrison S.J. et al., *Complex disease and phenotype mapping in the domestic dog*, „Nature Communications" 2016, 7(1):10460.
15. Todhunter R.J., Mateescu R., Lust G., Burton-Wurster N.I., Dykes N.L., Bliss S.P., Williams A.J., Vernier-Singer M., Corey E., Harjes C. et al., *Quantitative trait loci for hip dysplasia in a crossbreed canine pedigree*, „Mammalian Genome" 2005, 16(9):720–730.
16. Miko I., *Epistasis: Gene Interaction and Phenotype Effects*, „Nature Education" 2008, 1(1).
17. Anthony J.F., Griffiths J.H.M., David T. Suzuki, Richard C. Lewontin, William M. Gelbart, *Gene interaction and modified dihybrid ratios*, [w:] *An Introduction to Genetic Analysis,* 7th edn., New York: W.H. Freeman 2000.

18. Philipp U., Hamann H., Mecklenburg L., Nishino S., Mignot E., Günzel-Apel A.-R., Schmutz S.M., Leeb T., *Polymorphisms within the canine MLPH gene are associated with dilute coat color in dogs*, „BMC genetics" 2005, 6:34–34.
19. Bauer A., Kehl A., Jagannathan V., Leeb T., *A novel MLPH variant in dogs with coat colour dilution*, „Anim Genet" 2018, 49(1):94–97.
20. Grahn R.A., Grahn J.C., Colangelo J.R., Malvick J., *A novel MLPH mutation results in a third coat color dilution variant in dogs*, 10th International Conference on Canine and Feline Genetics and Genomics May 26–29 2019; Bern, Switzerland 2019.
21. Strain G.M., *The Genetics of Deafness in Domestic Animals*, „Front Vet Sci" 2015, 2:29–29.
22. Salmon Hillbertz N.H., Isaksson M., Karlsson E.K., Hellmén E., Pielberg G.R., Savolainen P., Wade C.M., von Euler H., Gustafson U., Hedhammar A et al., *Duplication of FGF3, FGF4, FGF19 and ORAOV1 causes hair ridge and predisposition to dermoid sinus in Ridgeback dogs*, „Nat Genet" 2007, 39(11):1318–1320.
23. Li F.-Y., Cuddon P.A., Song J., Wood S.L., Patterson J.S., Shelton G.D., Duncan I.D., *Canine spongiform leukoencephalomyelopathy is associated with a missense mutation in cytochrome b*, „Neurobiology of Disease" 2006, 21(1):35–42.
24. Baranowska I., Jäderlund K.H., Nennesmo I., Holmqvist E., Heidrich N., Larsson N.-G., Andersson G., Wagner E.G.H., Hedhammar A., Wibom R. et al., *Sensory ataxic neuropathy in golden retriever dogs is caused by a deletion in the mitochondrial tRNATyr gene*, „PLoS genetics" 2009, 5(5):e1000499-e1000499.
25. Miko I., *Genetic Dominance: Genotype-Phenotype Relationships*, [w:] *Nature Education,* vol. 1, 2008.
26. Farrell L.L., Schoenebeck J.J., Wiener P., Clements D.N., Summers K.M., *The challenges of pedigree dog health: approaches to combating inherited disease,* „Canine genetics and epidemiology" 2015, 2(1):3.
27. Karlsson E.K., Lindblad-Toh K., *Leader of the pack: gene mapping in dogs and other model organisms*, „Nature Reviews Genetics" 2008, 9(9):713–725.
28. *Duck-Tolling Retrievers Yield Genetic Clues to Autoimmune Disease* [http://www.bioquicknews.com/node/242].
29. Leroy G., Baumung R., *Mating practices and the dissemination of genetic disorders in domestic animals, based on the example of dog breeding*, „Animal Genetics" 2011, 42(1):66–74.
30. Mosher D.S., Quignon P., Bustamante C.D., Sutter N.B., Mellersh C.S., Parker H.G., Ostrander E.A., *A Mutation in the Myostatin Gene Increases Muscle Mass and Enhances Racing Performance in Heterozygote Dogs*, „PLoS genetics" 2007, 3(5):e79.
31. Cao X., Irwin D.M., Liu Y.-H., Cheng L.-G., Wang L., Wang G.-D., Zhang Y.-P., *Balancing Selection on CDH2 May Be Related to the Behavioral Features of the Belgian Malinois*, „PLOS ONE" 2014, 9(10):e110075.
32. *Presentation of our organization* [http://www.fci.be/en].
33. [https://www.akc.org/dog-breeds/].
34. Collins L.M., Asher L., Summers J., McGreevy P., *Getting priorities straight: risk assessment and decision-making in the improvement of inherited disorders in pedigree dogs*, „Vet J" 2011, 189(2):147–154.
35. Mellanby R.J., Ogden R., Clements D.N., French A.T., Gow A.G., Powell R., Corcoran B., Schoeman J.P., Summers K.M., *Population structure and genetic heterogeneity in popular dog breeds in the UK*, „The Veterinary Journal" 2013, 196(1):92–97.

36. Bell J.S., *The Ins and Outs of Pedigree Analysis, Genetic Diversity, and Genetic Disease Control*, [w:] *Tufts' Canine and Feline Breeding and Genetics Conference: 2003,* North Graton, MA 2003.
37. Bannasch D., Safra N., Young A., Karmi N., Schaible R.S., Ling G.V., *Mutations in the SLC2A9 gene cause hyperuricosuria and hyperuricemia in the dog*, „PLoS genetics" 2008, 4(11):e1000246–e1000246.
38. Asher L., Diesel G., Summers J.F., McGreevy P.D., Collins L.M., *Inherited defects in pedigree dogs. Part 1: Disorders related to breed standards*, „The Veterinary Journal" 2009, 182(3):402–411.
39. The Council On E, Judicial Affairs AMA, *Multiplex Genetic Testing*, „Hastings Center Report" 1998, 28(4):15–21.
40. Risks IoMUCoAG, *Genetic Testing and Assessment*, [w:] Andrews L.B.F.J., Holtzman N.A. et al., *Assessing Genetic Risks: Implications for Health and Social Policy*, Washington (DC): National Academies Press (US) 1994.
41. Kuo F.C., Mar B.G., Lindsley R.C., Lindeman N.I., *The relative utilities of genome-wide, gene panel, and individual gene sequencing in clinical practice*, „Blood" 2017, 130(4):433–439.
42. *Overcoming the Challenges of Multiplex PCR* [https://www.biocompare.com/Editorial--Articles/117895-Multiplex-PCR/].
43. Ke X., Kennedy L.J., Short A.D., Seppälä E.H., Barnes A., Clements D.N., Wood S.H., Carter S.D., Happ G.M., Lohi H. et al., *Assessment of the functionality of genome-wide canine SNP arrays and implications for canine disease association studies*, „Animal Genetics" 2011, 42(2):181–190.
44. *DNA testing & simple inherited disorders* [https://www.thekennelclub.org.uk/health-and-dog-care/health/getting-started-with-health-testing-and-screening/dna-testing/].
45. Inthorn J., *Genetic risk information*, „Journal of Risk Research" 2018, 21(2):109–116.
46. Evans J.M., Noorai R.E., Tsai K.L., Starr-Moss A.N., Hill C.M., Anderson K.J., Famula T.R., Clark L.A., *Beyond the MHC: A canine model of dermatomyositis shows a complex pattern of genetic risk involving novel loci*, „PLoS genetics" 2017, 13(2):e1006604.
47. Lacy R.C., *Importance of genetic variation to the viability of mammalian populations*, „Journal of Mammalogy" 1997, 78(2):320–335.
48. Booy G., Hendriks R.J.J., Smulders M.J.M., Van Groenendael J.M., Vosman B., *Genetic Diversity and the Survival of Populations*, „Plant Biology" 2000, 2(4):379–395.
49. Kanthaswamy S., Oldt R., Montes M., Falak A., *Comparing two commercial domestic dog (Canis familiaris) STR genotyping kits for forensic identity calculations in a mixed-breed dog population sample*, „Animal genetics" 2019, 50(1):105–111.
50. Rothschild M.F.S., Lamont S.J., *The Major Histocompatibility Complex and its Role in Disease Resistance and Immune Responsiveness*, Edited by Publications AS 2000: 414.
51. Sommer S., *The importance of immune gene variability (MHC) in evolutionary ecology and conservation*, „Front Zool" 2005, 2:16–16.
52. Kennedy L.J., Barnes A., Short A., Brown J.J., Lester S., Seddon J., Fleeman L., Francino O., Brkljacic M., Knyazev S. et al., *Canine DLA diversity: 1. New alleles and haplotypes*, „Tissue antigens" 2007, 69 Suppl 1:272–288.
53. Radwan J., Biedrzycka A., Babik W., *Does reduced MHC diversity decrease viability of vertebrate populations?*, „Biological Conservation" 2010, 143(3):537–544.
54. Brown E., Young A., Wolf Z., Wade C.M., Hughes A., Foreman O., Jayashankar K., Oberbauer A., Safra N., Lindblad-Toh K. et al., *Juvenile Hypoad"renocorticism in the Nova Scotia Duck Tolling Retriever: A recessive monogenic autoimmune disease*, [w:] *2016*

American College of Veterinary Internal Medicine Forum: 2016; Denver, Colorado, „Journal of Veterinary Internal Medicine“ 2016: 1407–1519.
55. *Juvenile Addison's Disease* [https://www.ofa.org/diseases/dna-tested-diseases/juvenile--addisonsdisease#:~:text=Nova%20Scotia%20Duck%20Tolling%20Retriever%20ONLY&text=Addison's%20disease%20can%20occur%20in,of%20onset%20of%204%20years.&text=The%20average%20age%20of%20puppies,of%20age%20have%20been%20identified].
56. Bunel M., Chaudieu G., Hamel C., Lagoutte L., Manes G., Botherel N., Brabet P., Pilorge P., André C., Quignon P., *Natural models for retinitis pigmentosa: progressive retinal atrophy in dog breeds*, „Human Genetics” 2019, 138(5):441–453.
57. Mellersh C.S., Boursnell M.E.G., Pettitt L., Ryder E.J., Holmes N.G., Grafham D., Forman O.P., Sampson J., Barnett K.C., Blanton S. et al., *Canine RPGRIP1 mutation establishes cone–rod dystrophy in miniature longhaired dachshunds as a homologue of human Leber congenital amaurosis*, „Genomics” 2006, 88(3):293–301.
58. Das R.G., Marinho F.P., Iwabe S., Santana E., McDaid K.S., Aguirre G.D., Miyadera K., *Variabilities in retinal function and structure in a canine model of cone-rod dystrophy associated with RPGRIP1 support multigenic etiology*, „Scientific Reports” 2017, 7(1):12823.
59. Zeng R., Coates J.R., Johnson G.C., Hansen L., Awano T., Kolicheski A., Ivansson E., Perloski M., Lindblad-Toh K., O'Brien D.P. et al., *Breed distribution of SOD1 alleles previously associated with canine degenerative myelopathy*, „Journal of veterinary internal medicine” 2014, 28(2):515–521.
60. Amorim C.E.G., Gao Z., Baker Z., Diesel J.F., Simons Y.B., Haque I.S., Pickrell J., Przeworski M., *The population genetics of human disease: The case of recessive, lethal mutations*, „PLoS genetics” 2017, 13(9):e1006915.
61. Karlsson L.M.S.N.E., *Pet genomics medicine runs wild*, „Nature” 2018: 470–472.
62. Zhang S., *What vets think of ‚23andMe for dogs'*, [w:] *The Atlantic*, 2018.
63. *Genetic Health Screening for Dogs* [https://www.whole-dog-journal.com/behavior/instincts-dna/genetic-health-screening-for-dogs/] .
64. Lewis T.W., Mellersh C.S., *Changes in mutation frequency of eight Mendelian inherited disorders in eight pedigree dog populations following introduction of a commercial DNA test*, „PloS one” 2019, 14(1):e0209864-e0209864.
65. Gao Z., Waggoner D., Stephens M., Ober C., Przeworski M., *An Estimate of the Average Number of Recessive Lethal Mutations Carried by Humans*, „Genetics” 2015, 199(4):1243.
66. Indrebø A., *Animal welfare in modern dog breeding*, „*Acta Veterinaria Scandinavica*” 2008, 50(Suppl 1):S6–S6.
67. Rongxing W., Junhua Y., *DNA Contamination and Treatment Countermeasures in Dog DNA Testing Laboratory*, „Animal Husbandry and Feed Science” 2017, 9(6):352–354.
68. *The Benefits and Pitfalls of DNA Tests* [https://animallaw.foxrothschild.com/2017/02/26/the-benefits-and-pitfalls-of-dna-tests/].
69. Rimoin D.L., *The American College of Medical Genetics, the first 20 years*, „Genetics in Medicine” 2011, 13(3):179–187.
70. Shaffer L.G., Sundin K., Geretschlaeger A., Segert J., Swinburne J.E., Royal R., Loechel R., Ramirez C.J., Ballif B.C., *Standards and guidelines for canine clinical genetic testing laboratories*, „Human Genetics” 2019, 138(5):493–499.
71. Horton R., Crawford G., Freeman L., Fenwick A., Wright C.F., Lucassen A., *Direct-to-consumer genetic testing*, BMJ 2019, 367:l5688.

72. Lachance C.R., Erby L.A.H., Ford B.M., Allen V.C., Kaphingst K.A., *Informational content, literacy demands, and usability of websites offering health-related genetic tests directly to consumers*, „Genetics in Medicine" 2010, 12(5):304–312.
73. Pardo-Seco J., Martinón-Torres F., Salas A., *Evaluating the accuracy of AIM panels at quantifying genome ancestry*, „BMC Genomics" 2014, 15(1):543.
74. *How accurate are online DNA tests?* [https://www.scientificamerican.com/article/how--accurate-are-online-dna-tests/]
75. Wolf Z.T., Leslie E.J., Arzi B., Jayashankar K., Karmi N., Jia Z., Rowland D.J., Young A., Safra N., Sliskovic S. *et al.*, *A LINE-1 Insertion in DLX6 Is Responsible for Cleft Palate and Mandibular Abnormalities in a Canine Model of Pierre Robin Sequence*, „PLoS genetics" 2014, 10(4):e1004257.
76. Gregoire Leroy B.N.B., Katariina Maki, *Genetic testing can aid pet breeding*, „Nature" 2018, 562:1.
77. Deane-Coe P.E., Chu E.T., Slavney A., Boyko A.R., Sams A.J., *Direct-to-consumer DNA testing of 6,000 dogs reveals 98.6-kb duplication associated with blue eyes and heterochromia in Siberian Huskies*, „PLoS genetics" 2018, 14(10):e1007648-e1007648.
78. Donner J., Anderson H., Davison S., Hughes A.M., Bouirmane J., Lindqvist J., Lytle K.M., Ganesan B., Ottka C., Ruotanen P. et al., *Frequency and distribution of 152 genetic disease variants in over 100,000 mixed breed and purebred dogs*, „PLoS genetics" 2018, 14(4):e1007361.
79. Detilleux J., *A Leaky Noisy-OR Bayesian Network Applied to Genetic Counseling in Dogs*, „Animals" 2020, 10(6):1104.
80. Gershony L.C., Belanger J.M., Short A.D., Le M., Hytönen M.K., Lohi H., Famula T.R., Kennedy L.J., Oberbauer A.M., *DLA class II risk haplotypes for autoimmune diseases in the bearded collie offer insight to autoimmunity signatures across dog breeds*, *„Canine genetics and epidemiology"* 2019, 6(1):2.
81. Kennedy L.J., Barnes A., Short A., Brown J.J., Seddon J., Fleeman L., Brkljacic M., Happ G.M., Catchpole B., Ollier W.E., *Canine DLA diversity: 3. Disease studies*, „Tissue antigens" 2007, 69 Suppl 1:292–296.
82. Kennedy L.J., Ollier W.E.R., Marti E., Wagner J.L., Storb R.F., *Canine Immunogenetics*, [w:] Ostrander E.A., Ruvinsky A., *The Genetics of the Dog,* 2nd edn., London: CAB International 2012: 91–126.
83. Wilbe M., Sundberg K., Hansen I.R., Strandberg E., Nachreiner R.F., Hedhammar A., Kennedy L.J., Andersson G., Bjornerfeldt S., *Increased genetic risk or protection for canine autoimmune lymphocytic thyroiditis in Giant Schnauzers depends on DLA class II genotype*, „Tissue antigens" 2010, 75.