

CZYNNIKI RASOWE W REPRODUKCJI PSÓW I ICH ZWIĄZEK Z NIEPŁODNOŚCIĄ

CZĘŚĆ 1. TŁO ZAGADNIENIA

Andrzej Max

Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW

Historia domestykacji wielu gatunków zwierząt liczy tysiące lat, kiedy to osobniki miejscowych populacji były przystosowywane do współżycia z ludźmi i przysparzania im wielorakich pożytków, stając się stopniowo tymi, które obecnie nazywamy udomowionymi lub domowymi. W wyniku doboru naturalnego w konkretnych warunkach środowiskowych i przy udziale człowieka kształtowały się zbiorowości zwierząt tworząc prymitywne rasy, będące podgrupami tego samego gatunku lub podgatunku, cechujące się podobieństwem fenotypowym przekazywanym na potomstwo. Jednak w sensie hodowlanym ludzkość zaczęła doskonalić lub tworzyć rasy zwierząt w oparciu o sztuczną selekcję przed ok. 250-300 laty (7). Praca hodowlana, a wraz z nią przemieszczanie początkowo zwierząt, a współcześnie także gamet i zarodków oraz sztuczny dobór samic i samców do reprodukcji przyczyniły się do powstania współczesnych ras. Ich zróżnicowanie jest niekiedy tak znaczne, że czasem trudno uwierzyć, że należące do nich zwierzęta tworzą jeden gatunek. Przemianie uległy także pewne cechy fizjologiczne, odmienne od typowych dla dziko żyjących

przodków. Jednocześnie powstały liczne organizacje i stowarzyszenia hodowców, które za pośrednictwem tworzenia wzorców rasowych wymuszają nie tylko rozprzestrzenienie już mocno utrwalonych cech rasowych, ale w dalszym ciągu je przekształcają. Dotyczy to różnych aspektów biologicznych, między innymi reprodukcji. W tym artykule poruszone zostaną zagadnienia dotyczące psów domowych – *Canis lupus familiaris*. Jest w czym wybierać, gdyż największą światową organizacją (FCI – Fédération Cynologique Internationale) zrzeszającą blisko 100 klubów krajowych, w tym Związek Kynologiczny w Polsce, uznaje 370 ras psów.

Na zaburzenia reprodukcyjne zwraca się największą uwagę w grupie rasowych psów przeznaczonych do hodowli. Obserwuje się zwłaszcza wady morfologiczne i czynnościowe upośledzające płodność. W tym też kierunku zmiernie badania naukowe bazujące na przypadkach trafiających do lekarzy weterynarii. Jednak olbrzymia liczba zwierząt wyłączonych z rozrodu nie podlega, pomimo nieraz widocznych wad lub dysfunkcji, dokładnym badaniom, gdyż ich właściciele nie są zainteresowani rozwiązywaniem problemów z punktu widzenia ich

interesu nieistotnych, a także niewpływających na dobrostan zwierząt. W dużej mierze dotyczy to psów mieszańców, u których też występują nieprawidłowości, tyle że często szczegółowo nie diagnozowane.

Jak już wspomniano, rasy psów ewoluują w czasie, co dobitnie przedstawiono w artykule pod wymownym tytułem: 100 Years of Breed „Improvement”. Prezentowane są tam fotografie sylwetek współczesnych psów wybranych ras z ich odpowiednikami pochodzącymi z książki W. E. Masona: Dogs of All Nations z 1915 roku. Spektakularnym przykładem są osobniki rasy bernardyn, które należały dawniej do psów pracujących lecz ich cechy użytkowe uległy zatraceniu na rzecz estetycznego wyglądu z dużą masą ciała i wspaniałą okrywą włosową (ryc. 1). Niestety, jednocześnie selekcja spowodowała skłonność do: szybkiego przegrzewania się, entropium, ektropium, porażenia Stockarda, hemofilii, kostniakomieszaka, afakii i niedoboru fibrynowego (9).

Na początku warto wspomnieć, że niektóre opracowania umieszczają wrodzone wady rozwojowe i choroby dziedziczne w tym samym rozdziale, chociaż pojęcia te nie są tożsame. Trzeba więc przypomnieć,



Ryc. 1. Bernardyn współczesny (po prawej stronie) i jego przodek sprzed 100 lat (Caen Elegans/2012/09/29).

że wady i zaburzenia mogą być wrodzone (powstałe w życiu zarodkowo/płodowym) lub nabyte – powstałe dopiero po urodzeniu. Część wad wrodzonych, w tym typowych dla rasy ma charakter dziedziczny, co znaczy, że szerzą się one za pośrednictwem gamet, podczas gdy inne albo w ogóle nie są konsekwencją zaburzeń w obrębie genów/chromosomów albo prowadzą do wewnątrzmacicznej śmierci obciążonego osobnika lub niepłodności, co wyklucza ich utrwalenie w populacji. Jeżeli zmiana w materiale genetycznym występuje tylko w komórkach somatycznych to dotyczy wyłącznie osobnika obciążonego, natomiast obecna w komórkach germinatywnych, jest przekazywana na potomstwo. Często występują wady recesywne, które u heterozygot nie ujawniają się, powodując za to nosicielstwo. Z kolei u organizmów pod tym względem homozygotycznych manifestują się w fenotypie. Zatem tylko niekiedy aberracje chromosomowe lub mutacje genowe mogą wpływać na zdrowie, w tym na płodność.

Analizę wad dziedzicznych przeprowadzono między innymi wykorzystując bazę UK Kennel Club, przy czym rozdzielono je na te zależne od wskazanej w standardach rasowych budowy anatomicznej i od niej niezależne. W pierwszej grupie dokonano przeglądu zaburzeń u 50 najpopularniejszych ras i w obrębie każdej z nich stwierdzono co najmniej jeden aspekt budowy predysponujący ją do zaburzenia, a 84 zaburzenia były bezpośrednio lub pośrednio związane z budową. Najwięcej takich powiązań znaleziono u ras: pudel miniaturowy, buldog, mops i basset (1). W grupie drugiej zidentyfikowano 312 zaburzeń dziedzicznych, z największym nasileniem u owczarków niemieckich i golden retrieverów. Najczęściej były one związane z dziedziczeniem

autosomalnym recesywnym i dotyczyły układu sensorycznego (18).

Co jakiś czas pojawiają się zbiorcze zestawienia wad dziedzicznych u zwierząt, w tym psów dostępne w wersji tradycyjnej lub elektronicznej (8, 10, 16). W Polsce ukazało się opracowanie: „Wybrane wrodzone wady rozwojowe i choroby dziedziczne u psów i kotów. Przewodnik PSLWMZ” pod redakcją prof. Antoniego Schollenbergera (17).

W bazach danych oraz oryginalnych pracach badawczych i przeglądowych nieraz wskazywane bywają geny odpowiedzialne za daną wadę lub chorobę. W innych opracowaniach są jedynie przytaczane skłonności rasowe na podstawie porównań z innymi rasami, bez identyfikacji genów odpowiedzialnych. Ta wiedza wymaga więc ciągłego uzupełniania i poszerzania.

Aby dążenia hodowlane zostały spełnione, wybrane i pożądane cechy muszą być przekazywane na potomstwo. Dotyczy to jednak niejako przy okazji także innych cech, w tym niepożądanych, które szerzą się w populacji, między innymi w konsekwencji ograniczenia bioróżnorodności przez kojarzenie w pokrewieństwie, selektywne nadużywanie gamet wybranych (aktualnie modnych) reproduktorów i biotechniki rozrodu.

Badania genetyczne przeprowadzono na 18 000 psów rasowych (z 330 ras) i 83 000 mieszańców pod kątem występowania wariantów genetycznych powiązanych z chorobami mendlowskimi (mutacje w pojedynczym genie dziedziczone według praw Mendla). Skoncentrowano się na 152 znanych wariantach genowych i wykazano, że około dwa na pięć psów było nosicielami co najmniej jednej kopii testowanego wariantu choroby. Mieszańce były bardziej na-

Breed factors in canine reproduction and their relationship to infertility Part 1. General background

Animal domestication initiated the utilization and breeding of natural breeds. Over time, using selection and crossbreeding, these original breeds gave rise to many modern animal breeds, including dogs. Adaptation to breed standards leads to a reduction in genetic diversity within populations, which translates into an increase in desirable traits but also the uncontrolled spread of harmful gene variants. This article provides a general background on reproductive disorders in relation to breed-specific factors, but their diagnosis and understanding of the underlying mechanisms remain limited.

Keywords: reproduction, infertility, genetics, breed, dog.

rażone na nosicielstwo powszechnej choroby recesywnej, podczas gdy psy rasowe były bardziej narażone na genetyczne obciążenie jedną z nich, wskazując pewną specyfikę w obrębie rasy lub linii. U mieszańców częściej występowała choroba recesywna, podczas gdy u psów rasowych częściej występowało uwarunkowanie genetyczne jedną z chorób, co stanowi dowód (według badań DNA) na wigor hybryd będących heterozygotami w porównaniu do osobników czystej rasy, częściej homozygotycznych (5).

Dotychczas u psów zidentyfikowano setki wariantów genetycznych powiązanych z chorobami mendlowskimi. Znaczna ich część może być diagnozowana w laboratoriach komercyjnych

na całym świecie. Jednak ich stwierdzenie wymaga powiązania występowania wariantów w populacji z konsekwencjami klinicznymi. W jednym badaniu przeanalizowano olbrzymią, bo ponadmilionową grupę psów z ponad 150 krajów, aby określić częstość występowania i dystrybucję łącznie 250 wariantów genetycznych związanych z chorobami w populacji ogólnej. Jednocześnie pozyskano elektroniczną dokumentację medyczną klinik weterynaryjnych dla 43,5 % genotypowanych psów, co umożliwiło zbadanie klinicznego wpływu wariantów. Uzyskano dowody na pełną penetrację 10 wariantów i wiarygodne dowody na kliniczne znaczenie 22 wariantów w różnych grupach rasowych. Ponadto wykazano zmniejszenie heterozygotyczności w całym genomie, co jest związane ze zwiększonym obciążeniem wariantami chorób mendelowskich (6). Rasy psów o wyraźnie mniejszej liczebności od pozostałych są bardziej narażone na ryzyko wzrostu obciążenia genetycznego w zakresie chorób dziedzicznych. Przykładem może tu być rasa cavalier king charles spaniel z podatnością na zwyrodnienie śluzowate zastawki mitralnej (2).

Badania w tym obszarze pomagają w opracowaniu praktycznych metod eliminujących z populacji szkodliwe allele (warianty genów) przez strategię hodowlaną, na przykład eradykację zidentyfikowanego monogenowego zaburzenia recesywnego (eliminację nosicieli) lub ograniczenie liczby potomstwa od reproduktora (12). Z drugiej strony długofalowa polityka reprodukcyjna powinna uwzględniać również zagrożenia wynikające z nadmiernej presji na wykorzystywanie hodowlane wyłącznie zwierząt wolnych od nosicielstwa znanych chorób genetycznych, gdyż może to doprowadzić do utraty odpowiedniego poziomu różnorodności genetycznej oraz stanowi ryzyko rozprzestrzeniania się nowych chorób recesywnych, dla których nie są obecnie dostępne testy diagnostyczne (21).

Jednym z podstawowych zagadnień wpływających na płodność są zaburzenia determinacji płci.

Przyjmuje się, że zarodek ssaka ma skłonność do rozwoju w kierunku płci żeńskiej o ile nie zostanie zmobilizowany do przybrania formy męskiej. Płeć genetyczna różnicuje się na poziomie chromosomowym i genowym. Kluczowymi w tym procesie strukturami są parzyste grzebienie płciowe (ang. genital ridge), pojawiające się w zarodkach psich około 21-23 dnia po zapłodnieniu. Zostają



Ryc. 2. Powiększona łechtaczka.



Ryc. 3. Kość łechtaczki/prącia.

one skolonizowane przez niezróżnicowane pierwotne komórki rozrodcze/gonocyty, co daje początek formowaniu się bipotencjalnych gonad pierwotnych, zdolnych do przekształcenia się w jądra lub jajniki. W dniach 35-40 po zapłodnieniu zaczynają się one różnicować w zależności od zadziałania (lub nie) sygnału genetycznego. Sygnał ten jest warunkowany kariotypem męskim (u psa 78,XY). Głównym inicjatorem tej ścieżki jest gen *SRY* (ang. Sex-determining Region Y) zlokalizowany w chromosomie Y. Gen *SRY* koduje białko TDF (ang. *Testis-Determining Factor*) oraz stymuluje ekspresję innych genów, co w konsekwencji prowadzi do przekształcenia się w dniach 45-55 gonad pierwotnych w jądra płodowe. Nie otrzymujące tego sygnału osobniki o kariotypie (78,XX)

formują się w kierunku żeńskim, ich gonady pierwotne stają się jajnikami. W ten sposób różnicuje się płęć gonadowa. W zależności od gonad gonocyty dają początek oogenezie (jeszcze w życiu płodowym) lub spermatogenezie – po dojrzewaniu płciowym (4). W dalszym rozwoju kształtuje się płęć fenotypowa, której nietypowe/patologiczne formy obserwujemy w praktyce podczas badania klinicznego.

Usunięcie wspomnianych wyżej grzebieni płciowych przed różnicowaniem się gonad prowadzi do rozwoju osobnika o fenotypie żeńskim niezależnie od kariotypu (14).

Zaburzenia tych procesów prowadzą do wad rozwojowych cechujących się niezgodnościami między płcią genową, chromosomową, gonadową i fenotypo-

wą, co ma swój wymiar kliniczny. Noszą one ogólną nazwę DSD (ang. disorder of sexual development).

Zdiagnozowanie DSD u pojedynczych pacjentów nie pozwala na wyciąganie wniosków uogólnionych. Przykładem może być translokacja robertsonowska, występująca między innymi u psów. Aberracja ta (często w formie bezobjawowej u nosiciela) może być zarówno dziedziczna, jak też nabyta, dlatego na podstawie prostej analizy cytogenetycznej trudno jest ustalić dziedziczność tej wady w obrębie rasy (3, 19). Podobnie, jednostkowe badanie genetyczne nie wskazuje na powiązanie nieprawidłowości z konkretną rasą. Dopiero analiza porównawcza pozwala na poszerzenie poglądu na etiologię zaburzeń w rozwoju płci. Jako przykład można przytoczyć badania Szydłowskiego wskazujące na ukryte pokrewieństwo osobników z cechami DSD oraz wytypowanie genów, które mogą być zaangażowane w poszczególne przypadki zaburzeń determinacji płci u buldogów francuskich i staffordshire terrierów amerykańskich (20). Przypisanie różnych form niepłodności rasom jest bardzo trudne z uwagi na skąpe dane pochodzące z dużych populacji zwierząt, złożoność i zmienność stosowanych metod oraz niedojrzałość materiału badawczego. Poza tym różne wykrywane nieprawidłowości, chociaż stwierdzane u zwierząt rasowych, spotykane są też u mieszańców niebędących zwierzętami hodowlanymi ze znanymi rodowodami. Za przykład może posłużyć przypadek mieszańca posiadającego zewnętrzne narządy płciowe żeńskie ze znacznie powiększoną łechtaczką, z kością wewnątrz. Kariotyp tego zwierzęcia był żeński, 78, XX, przy braku genu *SRY*. Gonady okazały się jądrami, którym towarzyszyły najądrza oraz dobrze rozwinięte rogi macicy (13). Opisany przypadek ilustrują ryc. 2, 3 i 4).

Podsumowanie

Na zakończenie należy wspomnieć, że nowe problemy pojawiają się wraz z rozpowszechnianiem zaawansowanych technik reprodukcji, jak klonowanie, które u psów weszło w obszar komercyjny. Według informacji z 2022 roku sklonowano już ponad 1500 psów należących do różnych ras (15). Na przykład przy klonowaniu metodą przeniesienia jądra komórkowego dawcy do oocytu z uprzednio usuniętym własnym jądrem komórkowym (NT – ang.: Nuclear Transfer) zaobserwowano, że niekiedy po użyciu komórek od dawcy męskiego



Ryc. 4. Jądra z najądrzami i przylegającymi rogami macicy.

otrzymano potomstwo z żeńskimi zewnętrznymi narządami płciowymi i dysgenезją jąder (11).

Ten artykuł miał na celu ogólne przybliżenie wymienionych zagadnień. W kolejnych zostaną przedstawione szczegółowe informacje dotyczące płci męskiej i żeńskiej. ●

Piśmiennictwo

- 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. „*Vet. J.*”, 2009, 182, 402-411.
- Axelsson E, Ljungvall I, Bhoomik P, Conn L. B., Muren E, Ohlsson Å, Olsen L. H., Engdahl K., Hagman R., Hanson J., Kryvokhyzha D., Pettersson M., Grenet O., Moggs J., Del Rio-Espinola A., Epe C., Taillon B., Tawari N., Mane S., Hawkins T., Hedhammar Å, Gruet P., Häggström J., Lindblad-Toh K.: The genetic consequences of dog breed formation—Accumulation of deleterious genetic variation and fixation of mutations associated with myxomatous mitral valve disease in cavalier King Charles spaniels. „*PLoS Genet.*”, 2021, 17, doi: 10.1371/journal.pgen.1009726.
- de Gennaro L, Burgio M, Lacalandra G. M., Petronella F., L'Abbate A., Ravasini F., Trombetta B., Rizzo A., Ventura M., Cicirelli V.: Genomic sequencing to detect cross-breeding quality in dogs: An example studying disorders in sexual development. „*Int. J. Mol. Sci.*”, 2024, 25, doi: 10.3390/ijms251910763.
- de Souza A. F., Pieri N. C. G., Martins D. D. S.: Step by Step about Germ Cells Development in Canine. „*Animals (Basel)*” 2021, 11, doi: 10.3390/ani11030598.
- Donner J., Anderson H., Davison S., Hughes A. M., Bouirmane J., Lindqvist J., Lytle K. M., Ganesan B., Otta C., Ruotanen P., Kaukonen M., Forman O. P., Fretwell N., Cole C. A., Lohi H.: Frequency and distribution of 152 genetic disease variants in over 100,000 mixed breed and purebred dogs. „*PLoS Genet.*”, 2018, 14, doi: 10.1371/journal.pgen.1007361.
- Donner J., Freyer J., Davison S., Anderson H., Blades M., Honkanen L., Inman L., Brookhart-Knox C. A., Louviere A., Forman O. P., Chodroff Foran R.: Genetic prevalence and clinical relevance of canine Mendelian disease variants in over one million dogs. „*PLoS Genet.*”, 2023, 19, doi: 10.1371/journal.pgen.1010651.
- Hutu I., Oldenbroek K., van der Waaij L.: Animal breeding and husbandry. Agroprint, Timisoara, 2020.
- <https://cidid.discoveryspace.ca/>
- <https://dogbehaviorscience.wordpress.com/2012/09/29/100-years-of-breed-improvement/>
- <https://www.omia.org/home/>
- Hwang K. C., Choi Y. K., Jeong Y. I., Park K. B., Choi E. J., Jeong Y. W., Hossein M. S., Hyun S. H., Jeung E. B., Hwang W. S.: Demethylation of the sex-determining region Y gene promoter and incidence of disorder of sex development in cloned dog males. „*J. Physiol. Pharmacol.*”, 2020, 71, doi: 10.26402/jpp.2020.3.05.
- Leroy G., Rognon X.: Assessing the impact of breeding strategies on inherited disorders and genetic diversity in dogs. „*Vet. J.*”, 2012, 194, 343-348.
- Max A., Grabiec A., Sacharczuk M., Sysa P., Jurka P., Krzyżewska A.: 78, XX testicular DSD syndrome in a mongrel dog. „*Reprod. Domest. Anim.*”, 2012, 47, e7-e11.
- Meyers-Wallen V. N.: Inherited disorders of sexual development in dogs and cats. <https://www.vin.com/apputi/content/defaultadv1.aspx?pld=11243&meta=Generic&catid=31943&id=3861254>
- Olsson P. O., Jeong Y. W., Jeong Y. W., Kang M., Park G. B., Choi E., Kim S., Hossein M. S., Son Y. B., Hwang W. S.: Insights from one thousand cloned dogs. „*Sci. Rep.*” 2022, 12, doi: 10.1038/s41598-022-15097-7.
- Sargan D. R.: IDID: inherited diseases in dogs: web-based information for canine inherited disease genetics. „*Mamm. Genome*”, 2004, 15, 503-506.
- Schollenberger A. (red.): Wybrane wrodzone wady rozwojowe i choroby dziedziczne u psów i kotów. Przewodnik PSLWMZ. Galaktyka, Łódź 2017.
- Summers J. F., Diesel G., Asher L., McGreevy P. D., Collins L. M.: Inherited defects in pedigree dogs. Part 2: Disorders that are not related to breed standards. „*Vet. J.*”, 2010, 183, 39-45.
- Szczerbal I., Nizanski W., Dzimira S., Nowacka-Woszek J., Stachecka J., Biezynski J., Ligocka Z., Jagodka D., Fabian-Kurczok H., Switonski M.: Chromosome abnormalities in dogs with disorders of sex development (DSD). „*Anim. Reprod. Sci.*”, 2021, 230, doi: 10.1016/j.anireprosci.2021.106771.
- Szydłowski M.: A clue to the etiology of disorders of sex development from identity-by-descent analysis in dogs with cryptic relatedness. „*Anim. Genet.*”, 2023, 54, 166-176.
- Wade C. M.: Inbreeding and genetic diversity in dogs: results from DNA analysis. „*Vet. J.*”, 2011, 189, 183-188.

Andrzej Max, e-mail: landrzejmax@wp.pl