

# Vehniän mikroftalmia-tutkimus

## PALJASTI UUDENLAISEN PERIITYMISTAVAN

Vehnäterrierien periytyvän silmien kehityshäiriön mikroftalmian tutkimus kesti pitkään, mutta työn tuloksena löytyi sairauden uusi periytymistapa. Geenitestin avulla sairautta voidaan välttää ja vähitellen päästä siitä eroon kokonaan.

TEKSTI Satu Weckman | TAULUKOT Maria Kaukonen

Vehnäterrierien silmien kehityshäiriön tutkimus aloitettiin vuonna 2011, kun suomalaisen Aya Lundstenin Geijes-kenneliin syntyi pentuja, joiden silmät eivät olleet kehittyneet normaalisti.

Tutkimuksen teki Helsingin yliopiston koirien geenitutkimuksen ryhmä. Tutkija Maria Kaukonen kertoi kehityshäiriöstä ja geenitutkimuksesta Kerry- ja vehnäterrierikerhon luentotilaisuudessa syksyllä.

### NÄYTTEET 17 SAIRAALTA PENNULTA

Mikroftalmia-sairauden perinnöllisyystutkimusta varten kerättiin dna-näytteet 17 sairaalta vehnäpennulta. Suomalaisen pentueen lisäksi koirat olivat kahdesta puolalaisesta ja yhdestä tšekkipentueesta.

Näillä pennuilla oli mikroftalmia, verkkokalvon halkioita eli coloboma sekä alle kahden kuukauden ikäisenä näkyviä suonikalvon muutoksia eli choroideal hypoplasia, CH.

Lisäksi tutkimukseen saatiin näytteet kolmelta pennulta, joilla oli coloboma ja CH. Täysin terveeksi varmistettujen 23 verrokkikoiran silmät oli tutkittu alle kahden kuukauden iässä – aivan kuten sairailtakin koirilta. Ennen luovutusikää tehdyt silmätarkastukset olivat tutkimuksen kannalta oleellisia, sillä CH ei näy enää aikuisella koiralla.

Tutkimuksessa mukana olleista koirista tehtiin sukupuuanalyysi eli selvitettiin tutkimuksen koirien sukulaisuussuhteet. (Kuva 1).

### MUTAATIO LÖYTYI RBP4-GEENISTÄ

Jotta vehnäterriereillä esiintyvä silmän kehityshäiriötä aiheuttava geenivirhe pystyttäisiin paikantamaan tiettyyn kromosomiin, tehtiin 12 sairaalle ja 17 terveelle koiralle koko perimän laajuinen assosiaatiotutkimus. Menetelmällä paljastui, että sairaus liittyy vahvasti tietylle alueelle kromosomissa 28.

Varsinaisen sairautta aiheuttavan geenivirheen löytämiseksi tehtiin yhdelle mikroftalmiaa sairastavasta pennusta koko perimän sekvensointi eli dna:n emäsjärjestyksen selvitys. Sitä verrattiin 342 terveen koiran perimään ja löydettiin vain yksi ehdokasmutaatio kromosomista 28. Tämä mutaatio oli RBP4- eli retinol binding protein 4 -geenissä.

RBP4 tuottaa proteiinia, joka siirtää A-vitamiinia maksasta muihin kudoksiin. Raskauden aikana emon maksasta siirtyy A-vitamiinia istukan kautta pennulle. A-vitamiini on tärkeä erityisesti silmien kehitykselle.

### MUTAATION VARMISTUS JOHTI OIVALLUKSEEN

Tutkimustulosta varmistettaessa havaittiin, että kaikki 17 mikroftalmia-pentua olivat mutaation suhteen homotsygootteja eli ne olivat perineet mutaatiogeenin molemmilta vanhemmiltaan.

Kaikki 23 tervettä verrokkia olivat joko mutaatiogeenin kantajia tai terveitä eli niillä ei ollut mutaatiogeeniä. Lievästi sairaita olivat kantajia.

Havaittiin myös, että kaikkien sairaiden koirien emät olivat geneettisesti sairaita ja emänemät kantajia.

Tutkittaessa kaikki ympäri maailmaa geenipankkiin kerätyt vehnäterrierien 248 näytettä löydettiin kuitenkin kahdeksan silmiltään tervettä mutta geneettisesti sairasta homotsygoottia. Näistä seitsemän koiran emän genotyyppi oli tiedossa ja ne olivat kaikki kantajia. Terveiden homotsygoottien silmien verkkokalvoilla ei ollut rakenteellista poikkeamaa. Toistaiseksi ei kuitenkaan tiedetä, esiintyykö niillä mahdollisesti lieviä muutoksia hämäränäkökyvyssä.

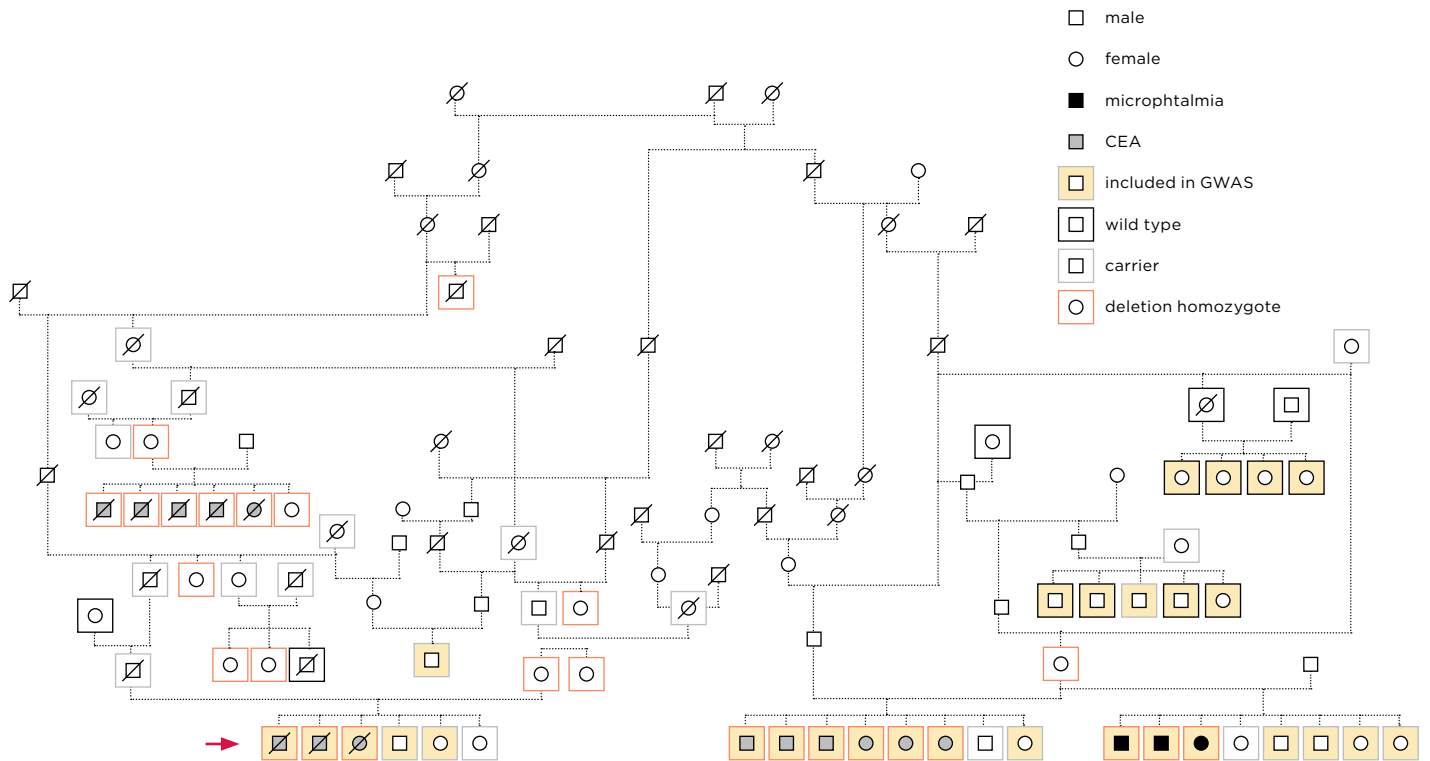
Miksi nämä koirat olivat terveitä perimästään huolimatta? Poikkeuksellisen periytymistavan selvittämiseen johti tutkija Maria Kaukonen oivallus: sairaiden pentujen emät olivat itsekin homotsygootteja, terveiden homotsygoottien emät olivat puolestaan kantajia.

### KEHITYSHÄIRIÖN AIHEUTTAA A-VITAMIININ PUUTOS

Mikroftalmia ilmenee vain, jos sekä emällä että pennulla on kaksi virheellistä geenikopiota.

Geenimutaation seurauksena RBP4:n määrä koiran veressä on alentunut. Tästä johtuen A-vitamiini ei siirry maksasta muihin kudoksiin, mikä johtaa silmän kehitykselle tärkeän A-vitamiinin puutokseen. Koska veri ei pysty kuljettamaan A-vitamiinia, ei puutosta myöskään voida hoitaa esimerkiksi antamalla vitamiinilisää.

Puutoksen vaikutus määrätty sen mukaan, saako yksilö lainkaan vai edes pienen määrän A-vitamiinia. Homotsygootti pentu, jonka emä on kantaja, on saanut emältään juuri ja juuri tarvittavan määrän A-vitamiinia silmän kehittymiseen ja on näin ollen ilmeisiltään terve.



Kuva 1, sukupuuanalyysi. Sairaats yksilöt on merkitty mustalla/harmaalla ja terveet valkoisella symbolilla. Geenimutaation kantajat on kehystetty harmaalla ja homotsygootit punaisella. Musta kehys tarkoittaa niin kutsuttua normaalia yksilöä, jolla mutaatiota ei ole. Nuolen osoittaman pennun koko perimä sekvenssoitiin.

Emän perimä siis määrää, sairastuuko pentu. Kehityshäiriön voimakkuus riippuu pennun perimästä.

Homotsygootin emän elimistössä A-vitamiini ei siirry istukkaan, jonka kautta pennut saavat ravintonsa. Mikäli pentukin on homotsygootti, ei senkään verenkierto pysty kuljettamaan A-vitamiinia. Tästä seurauksena on vakava silmän kehityshäiriö. Mikäli taas homotsygootin emän pentu on kantaja, on sillä kohonnut riski silmän lievemmille kehityshäiriöille.

Emän perimä siis määrää, sairastuuko pentu. Kehityshäiriön voimakkuus riippuu pennun perimästä.

### PERIYTYMISTAPA SAATTAA SELITTÄÄ MUITAKIN KEHITYSHÄIRIÖITÄ

Mikroftalmia-tutkimuksen tuloksena löydettiin täysin uudenlainen periytymistapa: sairaus ilmenee emän ja pennun, äidin ja lapsen, geenien yhteisvaikutuksesta. Maria Kaukosen mukaan tämä voi osoittautua luultua yleisemmäksi ilmiöksi ja selittää monenlaisia kehityshäiriöitä myös ihmisillä. Löydös myös alleviivaa äidin ja sikiön herkkää vuorovaikutusta raskauden aikana.

Tutkimus hyödyttää tulevaisuudessa sekä koiria että ihmisiä. Koirille on kehitetty geenitesti, jonka myötä mutaation esiintyvyyttä kannassa saadaan vähitellen pienennettyä. Ihmisille voidaan puolestaan kehittää uusia hoitomuotoja.

**Silmän kehityshäiriöt = MAC**

**Mikroftalmia** eli pienisilmäisyys

**Anoftalmia** eli silmättömyys

**Coloboma** eli silmänpohjan tai näköhermonpään vakava kehityshäiriö

**CH eli Choroideal hypoplasia** on verkkokalvon alla olevan suonikalvon paikallinen kehityshäiriö.

Vehnäterrierin jalostuksen tavoiteohjelmassa kehityshäiriöstä on käytetty nimitystä MOA, jatkossa käytetään nimitystä MAC.

### Mikroftalmia

- A-vitamiinin puutoksesta aiheutuva silmän kehityshäiriö, jota on tavattu vehnäterriereillä. A-vitamiinin puutoksen aiheuttaa mutaatio RBP4-geenissä.
- Uudenlainen periytymistapa: Emän perimä määrää, sairastuuko pentu. Taudin voimakkuus riippuu pennun perimästä.
- Kun sekä emällä että pennulla on molemmilta vanhemmilta peritty mutaatiogeeni eli molemmat ovat homotsygootteja, pentu on sairaus.
- Kun emä on homotsygootti ja pentu kantaja, pennulla on coloboma- ja/tai CH-riski.
- Mikroftalmia-mutaation löytämiseksi on kehitetty geenitesti.

# KASVATAJIEN KANNATTA ottaa geenitesti heti käyttöön

Vehnäterrierille on jo hetken aikaa ollut saatavilla kaupallinen RPB4-geenitesti. Testiä tarjoo muun muassa eläinlääketieteen laboratorio Laboklin. Testi on mukana myös Genoscooper-laboratorioiden MyDogDna-testipaneelissa yhdessä rotukohtaisten PLN- ja PxD-geenitestien kanssa.

MAC on listattu vehnäterrierien jalostuksen tavoiteohjelmaassa JTO:ssa rodun perinnölliseksi sairaudeksi, jonka vastustamiseksi kasvattajien tulee noudattaa tavoiteohjelman periaatteita. Suositus jalostusyksilöiden RPB4-geenitestauksesta lisätään seuraavaan JTO-päivitykseen. On kuitenkin erittäin suositeltavaa ottaa tämä geenitesti käyttöön välittömästi. Testatun koiran tulokset raportoidaan jalostustoimikunnalle, joka kirjaa ja julkaisee tulokset.

Tulosten tulokinnassa apuna toimii tutkija Maria Kaukosen laatima taulukko. Liian tiukkaa jalostusyksilöiden karsintaa yhden ominaisuuden perusteella ei tule missään nimessä tehdä, hän varoittaa. Liian tiukka karsinta edistää geneettistä pullonkaula-ilmiötä, jota perimältään jo ennestään kapea rotu ei välttämättä kestä – ainakin se tuo mukanaan yhä uusia ongelmia ja sairauksia.

Järkevintä jalostusvalinnassa on hyödyntää geenitestituloksia maltillisesti, kokonaisuus huomioiden. Ensimmäisenä ja ensisijaisena tavoitteena on ehkäistä sitä, ettei rotuun synny sairaita yksilöitä. Pitkällä aikavälillä tähdätään geenivirheen kantajien määrän vähenemiseen rodussa.

## KANSAINVÄLISESTI MERKITTÄVÄÄ GEENITUTKIMUSTA

Kerry- ja vehnäterrierikerhon luento-tilaisuudessa mikroftalmia-tutkimuksesta kertonut väitöskirjatutkija, eläinlääketieteen lisensiaatti Maria Kaukonen kuuluu professori Hannes Lohen koirien geenitutkimuksen ryhmään Helsingin yliopistossa. Ryhmässä työskentelee 20

täysipäiväistä tutkijaa, joilla on käytössään poikkeuksellisen suuri, mahdollisesti jopa maailman suurin koirien dna-pankki.

Dna-näytteitä pankissa on yhteensä 70 000 koirasta, jotka edustavat 340 eri rotua. Geenipankin yhdistäminen Kennelliton Koiranet-tietokantaan tarjoaa tutkijoiden käyttöön muun muassa koirakohtaiset terveystiedot ja sukutaulut.

Tutkimusryhmä on tehnyt useita geenilöytöjä esimerkiksi epilepsian ja luustosairauksien periytyvyydestä.

## MITEN JA MIKSI GENETIIKAN TUTKIMUSTA TEHDÄÄN?

Genetiikan tutkimus lähtee pohdinnasta, onko tutkittavana oleva sairaus perinnöllinen. Perinnölliset sairaudet ovat yhden tai useamman virheellisen geenimuodon aiheuttamia.

Tutkimusmateriaaliksi kerätään veri-näytteitä lemmikkikoirista ja -kissoista. Näytteitä tarvitaan sekä sairaista että terveistä yksilöistä ja ne talletetaan dna-pankkiin. Jo alle kymmenenkin sairaan koiran näytettä voi riittää resessiivisesti eli peittyvästi periytyvän sairauden löytämiseksi.

Näytteitä tutkitaan erilaisin genetiikan tutkimusmenetelmin. Tutkimustulosten varmistamiseen käytetään useita menetelmiä. Tulosten julkaiseminen kansainvälisissä tiedelehdissä toimii niin kutsutusti viimeisenä seulana, koska julkaiseminen edellyttää aina ulkopuolisten tutkijoiden hyväksynnän. Tässä vaiheessa tuloksista raportoidaan myös tutkimukseen osallistuneiden lemmikkien omistajille.

Sairauden periytyvyyden selvittämisen myötä pystytään ymmärtämään sairautta paremmin ja voidaan löytää uusia hoitomenetelmiä. Lisäksi saadaan käyttöön kaupallinen geenitesti, jonka avulla voidaan välttää sairaiden yksilöiden syntymisen jatkossa.

## SILMÄN KEHITYSHÄIRIÖITÄ SEKÄ KOIRILLA ETTÄ IHMISSILLÄ

Silmän kehityshäiriöitä on raportoitu sekä ihmisillä että monilla koiraroduilla. Collieilla esiintyvä CEA, collie eye anomaly, on sairaudenkuvaltaan osittain päällekkäinen MAC-sairauden kanssa. Molempiin liittyy coloboma ja CH, choroideal hypoplasia. Geneettisesti nämä sairaudet kuitenkin eroavat toisistaan.

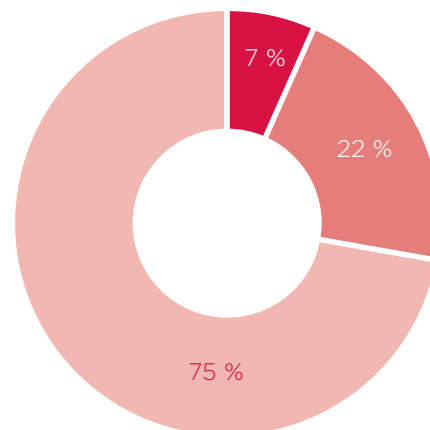
Vehnäterriereillä silmän kehityshäiriö on ensimmäisen kerran kuvattu kliinisesti vuonna 1995. Sairailla pennuilla raportoitiin kehityshäiriöitä sekä silmissä että sisäelimeissä. Valitettavasti näistä pennuista ei ollut dna-näytteitä saatavilla, joten täyttä varmuutta niiden sairauden laadusta ei ole.

Ihmisillä kehityshäiriö on yleensä vain silmissä ja voi johtua useista eri syistä. Sairauteen on liitetty 11 geeniä sekä muita ei-geneettisiä riskitekijöitä kuten äidin ikä, lääkitys ensimmäisen raskauskolmanneksen aikana sekä A-vitamiinin puute.

Isä	Emä	Pennut
AA	AA	AA: Ei oireita
Aa	AA	~50 % AA: Ei oireita ~50 % Aa: Ei oireita
aa	AA	Aa: Ei oireita
AA	Aa	~50 % AA: Ei oireita ~50 % Aa: Ei oireita
Aa	Aa	~25 % AA: Ei oireita ~50 % Aa: Ei oireita ~25 % aa: Ei oireita
aa	Aa	~50 % Aa: Ei oireita ~50 % aa: Ei oireita
AA	aa	Aa: Riski colobomalle ja/tai choroideal hypoplasialle
Aa	aa	~50 % Aa: Riski colobomalle ja/tai choroideal hypoplasialle ~50 % aa: Mikroftalmia
aa	aa	aa: Mikroftalmia

Taulukko auttaa tulkitsemaan RPB4-geenitestituloksia.  
AA = normaali eli ei kannata mutaatiogeeniä  
Aa = kantaja eli on perinyt mutaatiogeenin toiselta vanhemmistaan  
aa = sairas eli yksilö on perinyt mutaatiogeenin molemmilta vanhemmiltaan

### TUTKITUT VEHNÄTERRIERIEN NÄYTTEET:



Mutaation suhteen homotsygootteja, mutta terveitä	7 % (8 kpl)
Heterotsygootteja eli kantajia	22 % (55 kpl)
Terveitä / normaaleja	75 % (185 kpl)
<b>Tutkittuja yhteensä</b>	<b>248 kpl</b>