

Miia Nyrhilä, Sanna Elfving, Leena Ruotsalainen-Ryökkynen ja Elina Pietilä

Canine multifocal retinopathy (cmr) -kaltaisia muutoksia kahdella picardienpaimenkoiralla - tapausselestus ja kirjallisuuskatsaus

Canine multifocal retinopathy (cmr) -like lesions in two Berger de Picardie dogs - a case report and a literature review

YHTEENVETO

Virallisessa silmätarkastuksessa todettiin kahdella picardienpaimenkoirasaruksella canine multifocal retinopathy -sairauden (cmr) kaltaisia muutoksia molempien silmien silmänpohjissa. Kummallakaan koirasta ei ollut geenitestillä cmr 1–3-mutaatioita. Sairautta esiintyy muun muassa mastiffiroduilla, coton de tulearilla ja lapinporokoiralla. Picardienpaimenkoiralla cmr-sairautta ei ole vielä todettu. Cmr on verkkokalvosairaus, joka ilmenee jo 3–4 kuukauden ikäisillä koirilla. Tyypilliset muutokset ovat paikallisia verkkokalvon irtaumia, jotka eivät enää suurene ensimmäisen ikävuoden jälkeen. Muutokset saattavat hävitä kokonaan koiran vanhetessa. Cmr:n ei ole todettu vaikuttavan koiran näkökykyyn. Cmr-sairaus on paikannettu Best1-geenin mutaatioksi. Koiralla mutaatioita on löydetty kolme: cmr 1, cmr 2 ja cmr 3. Cmr on autosomaalisesti resessiivisesti periytyvä. Ihmisellä jo lapsuudessa ilmenevä harvinainen Best macular dystrophy (BMD) aiheutuu myös Best1-geenin mutaatioista. BMD voi heikentää näkökykyä lapsuudessa mutta yleensä vasta yli 40-vuotiaana. Ihmisellä on löydetty melkein 300 mutaatiota Best1-geenissä. BMD on autosomaalisen dominoivasti epätäydellisellä penetranssilla periytyvä. Cmr on eläinmalli ihmisen BMD-sairauden tutkimuksessa ja hoidon kehittämässä.

SUMMARY

Canine multifocal retinopathy (cmr) like lesions were found in both funduses in two siblings of Berger de Picardie dogs in an ECVO Eye Scheme Examination. Both dogs were negative for cmr 1–3 mutations. Cmr is found for example in Mastiff, Coton de Tulear and Lapponian Herder breeds. Cmr has not yet been found in Berger de Picardie. Cmr is a retinal disease, which is already manifested in dogs at the age of 3–4 months. Typical lesions are focal retinal detachments, which are not progressing after the age of 1 year. Lesions may disappear completely as the dog gets older. Cmr does not affect vision. Cmr is caused by mutations in Best1-gene. Three mutations have been found in the dog: cmr 1, cmr 2 and cmr 3. Cmr has an autosomal recessive model of inheritance. In humans, Best macular dystrophy (BMD), a rare retinal disease, that appears in childhood, is also caused by Best1 gene mutations. BMD might reduce vision already in childhood but usually only after the age of 40 years. Almost 300 mutations in the Best1 gene have been found in man. The mode of inheritance of BMD is autosomal dominant with incomplete penetrance. Cmr is an animal model for research and treatment of BMD.

JOHDANTO

Koirien verkkokalvosairaudet ovat olleet geenitutkimuksen kohteena 20 vuoden ajan. Tähän mennessä niiden taustalta on löydetty

24 mutaatiota 18 eri geenistä 58 koirarodulta.¹ Monet ihmisten verkkokalvosairauksien geeneistä on löydetty myös koirilta. Koira toimii eläinmallina ihmisen verkkokalvosairauksien tutkimuksessa.¹

Koiralla verkkokalvosairauksia on useita eivätkä kaikki ole sokeuttavia. Mikä tahansa verkkokalvon (retinan) kerros saattaa olla sairauden kohteena, mutta sauva- ja tappisolujen muodostama foto-

reseptorikerros ja verkkokalvon pigmenttiepiteelisolukerros (retinal pigment epithelial, RPE) ovat yleisimmät kohteet.² PRA-tyypit (progressive retinal atrophy) eli sauva- tai tappisolujen kasvuhäiriö (dysplasia) ja rappeutuminen (degeneraatio ja atrofia), CEA/CRD (collie eye anomaly/choroidal hypoplasia), CSNB (congenital stationary night blindness) ja Canine Multifocal Retinopathy (*cmr*) ovat verkkokalvosairauksia, joita aiheuttava geenivirhe on löydetty tietyiltä roduilta.^{1,3} Verkkokalvosairaudet ovat usein autosomaalisesti resessiivisesti periytyviä mutta myös autosomaalista dominanttia ja X-kromosomiin liittyvää periytymistä on todettu.¹

Cmr on tähän mennessä todettu mastiffiroduilla, coton de tulearilla ja lapinporokoiralla.^{4,7} Esittelemme kahden picardienpaimenkoiran *cmr*:n kaltaisia muutoksia. Kirjallisuuskatsaus kertoo *cmr*:n genetiikasta, kliinisistä löydöksistä, histopatologiasta sekä verrataan *cmr*-sairautta samantyyppiseen ihmisen verkkokalvosairauteen, BMD:aan.

TAPAUSSIELOSTUS

Suomessa syntyneestä samasta pentueesta olevilla kahdella picardienpaimenkoirauroksella todettiin virallisessa silmätarkastuksessa epäsuoralla oftalmoskoopilla verkkokalvolla *cmr*:n kaltaisia muutoksia. Toinen uros (potilas 1) tutkittiin kaksi kertaa: ensimmäisen kerran yksivuotiaana ja toisen kerran kaksivuotiaana. Toinen uros (potilas 2) tutkittiin ensimmäisen kerran kaksivuotiaana. Suomen Kennelliitto – Finska Kennelklubben ry:n (SKL) KoiraNet-jalostustietokannasta saatiin tiedot koirien sukulaisille tehdyistä virallisista silmätarkastuksista. Pentuesisaruksista kuudelle kahdeksasta on tehty virallinen silmätarkastus 1–2 vuoden iässä. Emälle silmätarkastus on tehty

YDINKOHDAT:

- *Cmr* on löydetty muun muassa mastiffiroduilta, coton de tulearilta ja lapinporokoiralta.
- Muutokset ilmenevät 3–4 kuukauden ikäisillä pennuilla ja saattavat kadota koiran vanhetessa.
- *Cmr* ei vaikuta koiran näköön.
- Mutaatiot Best1-geenissä aiheuttavat *cmr*:n ja ihmisen BMD:n.
- Löysimme kahdelta saman pentueen picardienpaimenkoiralta silmätarkastuksesta *cmr*:n kaltaisia muutoksia.
- Geenitesti oli negatiivinen *cmr1*-, *cmr2*- ja *cmr3*-mutaatioiden suhteen.

Artikkeli on saatu toimitukseen 17.6.2014.

vuoden ja 5 vuoden iässä. Tutkituilla muilla pentuesisaruksilla ja emällä ei ole todettu vastaavia muutoksia. Pentueen ulkomailta tuotua isää ei ole silmätarkastettu. Emän pentuesisaruksista osa on silmätarkastettu eikä tarkastetuilla ole tietokannan mukaan todettu *cmr*:n kaltaisia muutoksia.

POTILASTAPAUSET 1

Vuoden ikäisellä uroksella totesimme molemmissa silmätarkastuksissa useita pyöreitä, koholla olevia, hyporeflektiivisiä (tummaikuisia), rakkulamaisia muutoksia. Muutokset olivat erikokoisia ja ne paikallistuivat tapetaalialueen reunaoille (perifeerisesti), verkkokalvon dorsaalisten verisuonten läheisyyteen. Rakkuloiden keskusta oli laskeutunut, kun koira oli 2-vuotias. Muutosten keskusta oli hyperreflektiivinen (kirkkaskäikui-nen) ja reunoilla oli rengasmaisen hyporeflektiivinen harmaus. Kooltaan muutokset olivat samankokoisia verrattuna vuoden takaisiin muutoksiin (L. Ruotsalainen-Ryökynen, henkilökohtainen tiedonanto). Muutokset muistuttivat *cmr*-muutoksia, joita ei ole todettu

picardienpaimenkoiralla. Koirasta otettiin EDTA-verinäyte, joka tutkittiin OptiGen-laboratoriossa *cmr*-mutaatioiden varalta. Tulos oli negatiivinen *cmr1*–3-mutaatioiden osalta. 2-vuotiaan koiran vasemman silmän silmätarkastus kuvattiin iPhone 4S -kameralla muutosten dokumentoimiseksi (kuva 1).

Kolmen koiran taloudessa asuva koiralta ei tutkittu virtsanäytettä tai perusverinäytteitä. Koiran ruokavalio koostuu teollisesta koiranruuasta. 1-vuotiaasta koiraa hoidettiin käärmeenpureman vuoksi ja ohutsuolesta leikattiin vierasesine. Koira rauhoitettiin lonkka- ja kyynärnivelpunkaustuksiin ja rokotettiin penikkatautiin, parvoa, tarttuvaa maksatulehdusta, kennelyskää ja raivotautia vastaan. Kennelyskärokotusta ei tehostettu vuosittain. Sisäloiset häädettiin kaksi kertaa vuodessa. Koira ei ole ollut ulkomailta. Omistajan mukaan koiran näkökyky oli hyvä.

POTILASTAPAUSET 2

Silmätarkastus tehtiin ensimmäisen kerran 2-vuotiaalle urokselle. Muutokset tapetumin alueella olivat pyöreitä erikokoisia hyperreflektiivisiä läiskä, joissa oli hyporeflektiivinen hieman koholla oleva reuna. Muutokset sijaitsivat verkkokalvon dorsaalisten verisuonten läheisyydessä. Muutoksia oli molemmissa silmissä (S. Elfving, henkilökohtainen tiedonanto). Koiran silmätarkastuksesta otettiin kuva funduskameralla muutosten dokumentoimiseksi (kuva 2). Koiran verinäyte tutkittiin OptiGen-laboratoriossa. Tulos oli negatiivinen *cmr1*–3-mutaatioiden osalta.

Koira asuu kahden koiran taloudessa, jossa on kaneja ja chinchilla. Perusrokotukset annettiin suositusten mukaisesti. Loiset häädettiin fenbendatsolilla ennen rokotuksia ja sen jälkeen puolen vuoden välein. Noin 16 viikon iässä annetun madotuksen jälkeen ulosteen mukana tuli omistajan

mukaan suolinkainen. Omistaja ei sen jälkeen havainnut koiralla sisäloisia. Alle 1-vuotiaista koiraa hoidettiin kahdesti rakkulaisen sidekalvon tulehduksen vuoksi. Sidekalvolta poistettiin vierasesine. Koira rauhoitettiin tassussa olleen vierasesineen poistoa ja virallisia lonkka- ja kyynärnivelkuvauksia varten. 7 kuukauden iässä koiralla oli kuumeinen oksennus- ja ripulijakso, jonka epäiltiin tarttuneen koiranäyttelystä. Ruokavalio muutettiin suolisto-oireiden ja korvien kutinan vuoksi raakaruokaan, kun koira oli 11 kuukautta vanha. Raakaruoka sisältää useita lihatyyppejä ja järvikaloja sekä rasvahappo-, kalkki- ja B-vitamiinilisiä. Koira ei ole käynyt ulkomailla. Omistajan mukaan koiran näkökyky oli hyvä.

KIRJALLISUUSKATSAUS

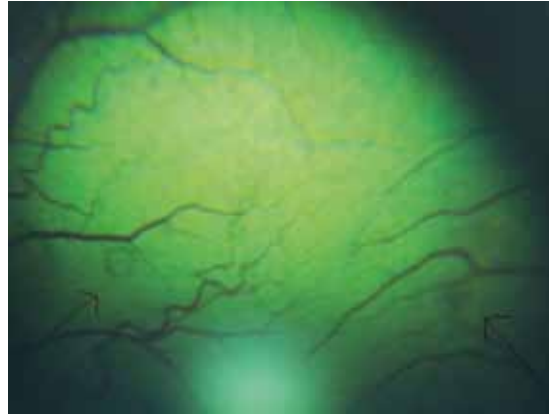
Genetiikka

Koirilta on löydetty kolme mutaatiota canine Bestrofin1-geenissä (cBest1): *cmr1*, *cmr2* ja *cmr3*. *Cmr1*–3-sairaiden koirien ilmiäsu on samanlainen, vaikka mutaatio cBest1-geenissä on erilainen.^{4,6}

Cmr1-mutaatio on löydetty seitsemältä mastiffialkuperää olevalta rodulta: pyreneittenkoiralta, englanninmastiffilta, bullmastiffilta, italian cane corsolta, dogo canariolta, boerboel-rodulta ja bordeaux mastiffilta sekä australianpaimenkoiralta ja amerikkalais-bulldoggilta.^{4,5,7,8} *Cmr1*-sairaana koiran fenotyyppi on seurausta nonsense-mutaatiosta C73T/R25X eksonin 2 kodonin 25 cBest1-geenissä. Mutaatio aiheuttaa Arg25-korvautumisen stop-kodonilla ja muodostaa HphI-rajoituskohdan. Genotypiltään *cmr1*-sairas koira on homostygootti.⁵

Coton de tulear -rodulla esiintyy *cmr2*-mutaatio. *Cmr2*-sairaana koiran fenotyyppi on seurausta missense-mutaatiosta G482A/G161D-eksonin 5 cBest1-geenissä. Mutaatio aiheuttaa glysiinin korvautumisen aspartaamihapolla

Eija Pietilä



KUVA 1 FIGURE

Tapetaalialueella pyöreä retinopatiamuutos (nuolet) kaksivuotiaalla picardienpaimenkoiralla.

A roud retinopathy lesion on the tapetal area (arrows) in 2-year-old Berger de Picardie.

kohdassa 161 (Gly161Asp). *Cmr2*-sairas koira on genotypiltään homostygootti.^{5,9}

Lapinporokoiralla esiintyy *cmr3*-mutaatio. *Cmr3* on seurausta kahdesta frameshift-mutaatiosta (P463fs ja G489V) eksonin10 cBEST1-geeniä koodaavalla alueella. Mutaatiossa P463fs-nukletidissä C1388 tapahtuu poistuma, jonka seurauksena aminohapon 490 kohdalle tulee uusi stop-kodoni. Mutaatiossa G489V nukletidi G1466T korvautuu itsellään. Yhdessä C1388-deleetio ja G1466T:n korvautuminen aiheuttavat aminohapon 489 kohdalla ylimääräisen stop-kodonin (Gly489X). Mutaatioiden yhteisvaikutus aiheuttaa *cmr3*-muutokset. Lapinporokoirat, joilla on *cmr3*-sairaus, ovat genotypiltään homostygooteja.⁴

Cmr-geenin kantajuus voidaan todeta EDTA-verinäytteestä yllämainituilta roduilta. Tulevaisuudessa uusia cBEST1-geenin mutaatioita löydetään todennäköisesti lisää. Berninpaimenkoiralta, jämtlännpystykorvalta ja norfolkin-terrieriltä on löydetty mutaatioita cBest1-geenistä, mutta niitä ei ole yhdistetty *cmr*-sairauteen.⁴

BMD-sairaus on human Bestrofin1-geenin (hBest1) mutaatioiden aiheuttama. hBest1-geeni on paikannettu kromosomiin 11 kohtaan q12–q13.^{10,11} BMD on autosomaalisesti dominoivasti epä-

täydellisellä penetranssilla periytyvä verkkokalvosairaus.^{5,10,11} BMD:n fenotyyppiin on liitetty tällä hetkellä melkein 300 erilaista mutaatiota hBest1-geenissä.¹² hBest1-mutaatioita esiintyy eri etnistä alkuperää olevilla ihmisillä.^{5,13–18}

Bestrofin1-geenin tuote, bestrofin-proteiini, sijaitsee RPE-solujen basolateraalilla plasmamembraanilla.^{5,13,19} Bestrofin-proteiini on plasmamembraanilla sijaitsevien solukanavien rakenne- ja säätelijäproteiini. Sitä löytyy myös solunsisäisistä kloridikanavista, jotka säätelävät pH:ta, solunsisäistä nestemäärää ja lysosomaalista toimintaa.²⁰ Best1-geenin mutaation seurauksena bestrofin-proteiinin rakenne muuttuu eikä RPE pysty enää ylläpitämään solunsisäistä tai -ulkoista anioni- ja nestetasapainoa eikä kloridikanavien toimintaa.^{13,20} *Cmr1*-sairailla koirilla bestrofin-proteiini puuttuu RPE:sta homostygooteilta, kun heterostygooteilla sitä on puolet normaalimäärästä.⁶ *Cmr2*-mutaation seurauksena bestrofin-proteiini on virheellisesti RPE:n sisällä eikä solukalvolla.^{5,6} Ihmisellä tarkan näön (maculan) alueen RPE:ssa bestrofin-proteiinia on vähemmän kuin muualla silmänpohjan alueilla. Tällä on todennäköisesti merkitystä BMD-sairaudessa, koska tarkan näön alueella RPE ei pysty määrällä korvaamaan virheellistä

proteiinia.²¹ BMD:aan on kehitteillä verkkokalvon alle injisoitava geeniterapia, joka lisää RPE:n bestrofin-proteiinin tuotantoa. Virusvektoriin yhdistetty hBest1-geeni on saatu koirien RPE:ssa tuottamaan bestrofin-proteiinia 6 kuukauden ajan.²²

Kliniset löydökset

Cmr-sairailla koirilla silmän häikäisyrefleksi ja näkökyky ovat valossa ja pimeässä normaalit.^{8,9,23} Silmän perustutkimuksessa ei todeta muutoksia fluorekaiinivärjäyksessä, Shirmer-testissä, silmänpainemittauksessa tai silmän neurologisessa tutkimuksessa.²³ Veriarvoissa, virtsassa ja verenpaineessa ei ole muutoksia. *B.dermatitis*, *A.fumigatus* ja *T.gondii* -vastaaineita ei ole todettu.^{8,23} Vaihtoehdidiagnooseja ovat tulehdukselliset, nutriotinaaliset (E-vitamiinin puutos) ja synnynäiset verkkokalvon muutokset (multifocal retinal dysplasia eli MRD, coloboma, stafyloma), traumaperäiset verkkokalvon irtaumat, rappeumasairaudet ja kasvaintäpesäkkeet.^{4,8,23}

Cmr-muutokset silmänpohjassa nähdään epäsuoralla oftalmoskoopilla. Muutoksia on molempien silmien silmänpohjissa. Ne saattavat olla erilaisia iästä riippuen ja kadota koiran vanhetessa. Tyypilliset muutokset ovat koholla olevia erikokoisia harmaita, vaaleanpunaisia, oransseja tai keltaruskeita ja rakkulamaisia paikallisia verkkokalvon irtaumia, jotka johtuvat seroosin eritteen kertymisestä näköhermosolukeroksen (neuroretina) ja RPE:n väliin. Muutoskohtia on yleensä useita.^{4,5,8,9,23-25} Niiden ympärillä voi olla verkkokalvon turvotuksen aiheuttama epätäydellinen vaaleaman sävyinen rengas.^{4,5,8} Rakkulat pullistuvat kohti lasiaista kohoten verkkokalvolta jopa 4 mm.⁹ Rakkuloiden koko vaihtelee pistemäisistä muutoksista näköhermon pään kokoisiin, mutta myös jopa 4–6 kertaa näköhermon pään kokoisia

S. Elfving.



KUVA 2 FIGURE

Useita erikokoisia hypo-hyperreflektiivisiä retinopatia-muutoksia (nuolet) tapetaalialueella dorsaalisesti näköhermosta lähtevän verisuonen läheisyydessä. Huomaa muutosten hyperreflektiivinen keskusta ja hyporeflektiivinen reuna.

Several hypo-hyperreflective retinopathy lesions (arrows) of different size on the tapetal fundus near the dorsal vessel origin from the papilla. Note hyperreflective center and hyporeflective rim of lesions.

muutoksia ilmenee.^{8,9,23-25} Selkeimpiä muutokset ovat tapetaalialueella lähellä verkkokalvon verisuonia.^{4,5,8,9,23} Non-tapetaalialueella muutoksia on vähemmän ja valkoiset muutosalueet sijaitsevat lähellä verkkokalvon verisuonia.^{5,23,24} Rakkulat saattavat pysyä samanalaisina vuosia.^{5,9,23} Verkkokalvon rappeutuessa rakkulat madaltuvat ja muuttuvat hyperreflektiivisiksi. Hyperreflektiivisyys on merkki verkkokalvon ohentumisesta.^{9,23,24} Coton de tulearilla rakkulat voivat olla kuparinvärisiä.⁹

Pyreneittenkoiralla *cmr1*-muutoksia on kahdenlaisia. Seroosierite kertyy joko neuroretinan tai RPE:n alle. Neuroretinan irtaumista syntyvät rakkulat ovat yleensä nopeasti kehittyviä, selkeästi koholla olevia ja väriltään harmaita tai kellanruskeita. Lohenpunaiset RPE:n irtaumat eivät ole koholla. Ajan mittaan RPE:n irtaumat eivät muutu hyperreflektiivisiksi kuten neuroretinan irtaumat, vaan tummuvat ruskeiksi tai keltaruskeiksi lisääntyneen epiteelisolujen pigmentin ja liikakasvun vuoksi. Muutoksia esiintyy tapetaali- ja non-tapetaalialueen reuna-alueilla (perifeerisesti) sekä näköhermon pään ympärillä (peripapillaarisesti). Perifeeriset muutokset ovat

kooltaan pienempiä kuin peripapillaarisesti olevat muutokset. Perifeeriset muutokset kehittyvät 6 viikossa, kun taas peripapillaariset jopa muutamassa tunnissa. Usein peripapillaarisesti on laajoja neuroretinan irtaumia, kun taas perifeerisesti on pienempiä neuroretinan ja RPE:n irtaumien yhdistelmiä.^{23,24} Epäsuoralla oftalmoskoopilla on mahdotonta erottaa neuroretinan ja RPE:n irtaumaa toisistaan.²⁴

Coton de tulearilla ensimmäiset *cmr2*-muutokset ovat pieniä paikallisia harmaanvihertäviä pisteitä, jotka 6 kuukaudessa lisääntyvät ja laajenevat. Coton de tulearin muutokset ovat isompia kuin muilla roduilla ja katoavat hitaammin.⁹

Pyreneittenkoiralla *cmr1*-muutokset ilmaantuvat 11 viikon iässä. Ne kasvavat kooltaan ja lisääntyvät lukumäärältään aina 20 viikon ikään asti.²⁴ Muutosten koossa ja värissä ei tapahdu enää suuria muutoksia yli yksivuotiaalla pyreneittenkoiralla.²³ Coton de tulearilla *cmr2*-muutokset kehittyvät keskimäärin 14–16 viikon iästä 52 viikon ikään asti. Yli yksivuotiaalla coton de tulearilla muutokset eivät enää suurene ja rakkulat madaltuvat asteittain 4–5 vuoden iässä.⁹ Lapinporokoiran *cmr3*-muutoksia löytää tyypillisimmin 1–2-vuotiailla

yksilöiltä. Koska *cmr*-sairauden ilmiä voi olla erilainen rodun sisällä, vuosittainen silmätarkastus on suositeltavaa muutosten seuraamiseksi.⁴

Muut tutkimusmenetelmät, kuten silmän ultraäänitutkimus, elektoretinografia (ERG) tai fluorekaiiniangiografia, eivät auta erityisesti *cmr*-diagnoosissa.^{8,23,24} Silmän ultraäänitutkimuksessa todetaan paikallisia verkkokalvon irtaamia. ERG:ssa ei ole muutoksia.^{8,23} Tästä poikkeuksena ovat coton de tularit, joilla laajoista rakkuloista ja niiden sentraalisemmasta sijainnista johtuen ERG:ssa on havaittu muutoksia.⁹ Angiografialla todettiin pyreneittenpaimenkoiralla suonikalvon verenkierron estymisen ja RPE:n irtaumat muutostilassa, joita ei ole todettu coton de tularilla.^{9,21,24}

BMD:ssa muutokset kehittyvät maculan alueelle. Maculan keskellä on fovea eli tarkannäön keskus.²⁶ Koiralla ei ole foveaa, mutta area centraliksen alueella, noin 3–4 mm näköhermon päästä dorsolateraalaisesti, on tappisolujen ryvästymä.²⁷ Kooltaan BMD-muutokset ovat korkeintaan kaksi kertaa näköhermon pään kokoisia. Myös unilateraalisia, multifokaalisia ja maculan ulkopuolisia muutoksia esiintyy.^{5,6,10} Muutokset eivät ole välttämättä symmetrisiä toisessa silmässä. Ne ovat keltaisia ja jaetaan kliinisesti kuuteen asteeseen. Ensimmäisessä asteessa ei ole nähtävissä muutoksia. Toisessa asteessa maculan alueella on keltaoranssi, koholla oleva, pyöreä muutos, kooltaan 0,5–5 mm. Kolmannessa asteessa keltainen materiaali leviää RPE:n läpi muodostaen rakkulan. Neljännessä asteessa keltainen muutosalue muuttuu hajanaisemmaksi RPE:n hyperpigmentaation ja surkastumisen vuoksi. Viides aste on atrofoituminen, jolloin keltainen materiaali katoaa ja RPE:n surkastuminen etenee. Kuudennen asteen muutoksessa surkastuneen

maculan kohtaan kasvaa suonikalvolta uudisverisuonitus (neovaskularisaatio) ja verkkokalvon alle muodostuu arpikudosta. Muutokset saattavat kehittyä lievästä asteesta suoraan atrofiseen muotoon ilman välivaiheita.¹⁰

Toisen asteen muutokset ilmaantuvat jo 3–15-vuotiaalle. Edelessään BMD saattaa heikentää näköä 40 ikävuoden jälkeen. Kolmannen asteen muutos ilmenee usein 8–38-vuotiaana. Näön heikentyminen alkaa ilmetä neljännen asteen muutoksissa. BMD ei aiheuta lapsuudessa näön heikentymistä, minkä vuoksi BMD diagnosoidaan usein vasta vanhemmalla iällä. Lapsuudessa ilmenevät muutokset eivät välttämättä etene ja kaikille hBest1-geenin mutaatioiden kantajille ei kehity silmänpohjamuutoksia. Suurimmalla osalla sairastuneista on vähintään toisessa silmässä hyvä lähinäkö.¹⁰ *cmr*-sairailla koirilla ei ole todettu näön heikentymistä kliinisesti, mutta lieviä näköpuutteita voi olla laajojen ja area centraliksen alueelle muodostuvien rakkuloiden takia.^{8,9}

Koska muut ihmisten verkkokalvosairaudet ovat kliinisesti samannäköisiä kuin BMD-sairaus, muut tutkimusmenetelmät ovat tärkeitä diagnosoinnissa, toisin kuin koirilla. Tärkeä diagnostikeino on elektro-oculografia (EOG), joka mittaa RPE:n luomaa jännitettä. BMD:ssa jännite EOG:ssa laskee.^{13,28} EOG-mittausta ei käytetä koirilla hankalien mittaustilanteiden vuoksi. Kuten *cmr*:ssa, BMD-sairaiden ERG-tutkimuksissa ei ole todettu muutoksia.^{10,23,28} Toisin kuin *cmr*-muutoksissa, ihmisillä havaitaan angiografiassa RPE:n repeäminen ja neovaskularisaatio. BMD:ssa suonikalvon verenkierto estyy muutosalueilla kuten *cmr*:ssa.^{9,10,23,24}

Histopatologiset muutokset

Silmä on ainoa elin, jossa todetaan histopatologisia muutoksia *cmr*-

sairailla koirilla. Histopatologisia muutoksia on löydetty vain rakkulamutosten kohdalta. Muualla verkkokalvo, suonikalvo ja kova-
kalvo ovat normaalit.^{23,24}

Muutostilassa 16–24 viikon ikäisillä pyreneittenkoirilla todetaan paikallisia neuroretinan irtaamia ja RPE:n irtaamia Bruchin membraanista.²³ 5 kuukauden ikäisillä pennuilla RPE on hypertrofoitunut, hyperplastinen, vakuuloitunut ja pigmentoitunut. RPE:n hyperplasia muodostaa seinämiä, jotka vaikuttavat suonikalvon verenkiertoon.^{23,24} Samanlaisia muutoksia RPE:ssa on todettu 4-, 8- ja 10-vuotiailla pyreneittenkoirilla.^{5,23,24} RPE:n sytoplasmassa on laajoja pigmenttikerääntymiä sekä autofluoresoivaa, granulaista, keltaruskeaa pigmenttiä.⁵ Verkkokalvon rappeuma on edennyt fotoreseptorien sisäsegmenttiin asti 5 kuukauden ikäisillä ja sisimpänä olevaan gangliosolujen tumakerrokseen 4-vuotiailla.²⁴ 10-vuotiailla perifeerisissä muutoksissa RPE on hävinnyt ja verkkokalvon kaikissa kerroksissa on rappeumamuutoksia. Näköhermon pään läheisyydessä verkkokalvon kerrokset ovat säilyneet hyvin.⁵

Pyreneittenkoirien muutokset saattavat liittyä paikalliseen RPE:n kasvuhäiriöön, josta seuraa solujen toimintahäiriö.^{23,24} RPE:n säätely ionien ja nesteen liikkumisen tasapaino horjuu. Nestettä kertyy fotoreseptorien ulkosegmenttien ympärille ja RPE:n ja Bruchin membraanin väliseen tilaan, jolloin syntyy neuroretinan ja RPE:n irtaamia.¹⁹ Oletetaan, että koiralla RPE pystyy nopeasti täyttämään irtaumasta aiheutuneen tilan hyperplasialla ja -trofiolla. Tällöin RPE säilyttää yhteyden fotoreseptorien ulkosegmentteihin ja kiinnittyy uudelleen Bruchin membraaniin.²⁴ Kissoilla alle viikon kestävässä irtaumassa verkkokalvon toiminta säilyy, kun taas yli kuukauden kestävässä irtaumassa todetaan rappeumamuutoksia.²⁹

Kissoilla on todettu RPE:n hyperplasia ja -trofia 2–3 päivän sisällä verkkokalvon irtaumasta.³⁰

BMD:n histologiset muutokset ovat samanlaisia kuin *cmr*:ssa. Merkittävimmät muutokset ovat keltaisen materiaalin (lipofuskiinin) kertyminen RPE:n alle ja sytoplasmaan, RPE:n hyperplasia ja -trofia sekä fovean alueen verkkokalvon kerrosten rappeutuminen.^{5,13,19,23,24,31,32} Lipofuskiinin kerääntymisen epäillään liittyvän RPE:n apoptoosiin ja lysosomaalisen toiminnan ongelmiin tai fotoreseptoreiden aineenvaihduntahäiriöihin.¹³ Kuten *cmr*:ssa, myös BMD:ssa histopatologisia muutoksia löytyy vain muutosalueilta. Merkittävin ero koiraan verrattuna on lipofuskiinin kertymisellä RPE:n ja Bruchin membraanin väliseen tilaan.^{5,10,13,19,31-34} *Cmr*:ssa vain pyreneittenkoiran pennuilla on todettu RPE:n irtaamia Bruchin membraanista.²⁴ Lisäksi koiralla ei ole todettu RPE:n repeämistä, jolloin lipofuskiini pääsisi fotoreseptorien ulkosegmenttien ja RPE:n väliseen tilaan. Myöskään suonikalvolta tulevaa neovaskularisaatiota ja RPE:n ja Bruchin membraanin välisen tilan fibroosia ei *cmr*:ssa ole todettu.^{31,32,34}

POHDINTA

Suomen Kennelliiton KoiraNet-jalostustietokannan mukaan joulukuuhun 2013 mennessä Suomeen oli rekisteröity 85 picardienpaimenkoiraa. Niille on tehty 36 silmätarkastusta 1988–2013.

Potilaskoirillamme hypo-hyperreflektiiviset tapetaalialueen muutokset sopivat ilmiänsä perusteella hyvin *cmr*-sairauteen. Potilaalla 1 muutokset olivat vuodessa muuttuneet rakkuloista litistyneiksi muutosalueiksi kuten *cmr1*–3-sairaudessa.^{4,9,23,24} Picardienpaimenkoiralla saattaa olla uusi cBest1-geenin mutaatio, vaikka *cmr1*–3-geenitesti oli molemmilla koirilla negatiivinen.

Ihmisillä BMD:n fenotyyppiin on liitetty melkein 300 erilaista hBest1-geenin mutaatiota.¹² Pieni rotu ja se, että ilmiänsä samaanlaisia muutoksia omaavia koiria on toistaiseksi vähän, hankaloittavat uusien mutaatioiden löytymistä. OptiGen toivoi verinäytteitä yksilöistä, joilla todetaan *cmr*:lta näyttäviä muutoksia. Kyseisillä koirilla saattaa olla myös muun tai useamman geenin aiheuttama verkkokalvosairaus (retinopatia), jonka genotyyppiä ei ole vielä löydetty. Tulevaisuudessa uuden geenimutaation löytäminen johtaa ehkä tarkempaan diagnoosiin.

Koirien sisaruksista, vanhemmista ja emän sisaruksista saatiin tietoa SKL:n jalostustietojärjestelmään kirjatuista virallisista silmätarkastuslausunnoista. Silmätarkastustuloksia ei ollut saatavilla kaikista yksilöistä. Toisaalta tarkastajien erilaiset merkintätavat vaikuttavat siihen, mitkä löydökset tulevat näkyviin SKL:n tietokantaan. Koska *cmr*-sairautta ei ole todettu picardienpaimenkoiralla, virallisessa silmätarkastuksessa muutokset kuvaillaan usein kaavakkeeseen eivätkö ne näy tietokannassa, vaan tulevat vain omistajan ja rotuyhdistyksen tietoon.

Koirien rokotus-, madotus-, ruokinta-, elinolosuhde- ja sairaushistoria tunnettiin. Silmätarkastuksessa emme havainneet kummallakaan koirista värikalvontulehduksen (iriitti) tai suoni- ja verkkokalvontulehduksen (chorioretiniitti) muutoksia. Koirista ei tutkittu veri-, uloste- ja virtsanäytteitä silmänpohjamuutoksia havaittaessa. Nämä olisi ollut aiheellista tutkia, koska *cmr*:n vaihtoehtoisiin diagnooseihin ovat tulehdukselliset, endokrinologiset ja ravintopuutoksista aiheutuvat verkkokalvosairaudet. Potilas 2:lla oli omistajan mukaan suolinkaisia ja ruokinnan muutoksella helpotaneita ruuansulatuskanavaoireita alle vuoden iässä. Lisäksi koiran ravinnossa on raakaa järvika-

laa. Leveän heisimadon häätöön koiran saama matolääkitys ei ole riittävä. Parasiitit, alkueläimet, bakteeri-, virus- ja sieni-infektiot, E-vitamiinin puutos ja rasituksen aikaansaama hapenpuute tai immunologiset tulehdustilat voivat aiheuttaa paikallisia muutoksia verkkokalvolle. Tulehduksen jälkeiset muutokset eroavat *cmr*-muutoksista.^{8,23,35} Myös anemia, sydän- ja verisuonisairaudet ja korkea verenpaine voivat aiheuttaa muutoksia verkkokalvolle.³⁵ Tulehduksen jälkeiset muutokset saattavat olla akuutissa vaiheessa erehdyttävästi *cmr*-muutosten kaltaisia. Verkkokalvon paikalliset irtauma- ja turvotusalueet ovat valkoharmaita, hyporeflektiivisiä muutoksia lähellä verkkokalvon verisuonia.^{35,36} Aktiivinen tulehdus kuitenkin näkyy usein iriitinä ja/tai chorioretiniitinä sekä verenvuotoina ja verkkokalvon irtaamina, joita ei *cmr*:ssa nähdä.³⁵ Kroonistuessaan muutokset ovat ”härän silmän” (bull’s eye) muotoisia, eli tummaa pigmenttikeskustaa ympäröi hyperreflektiivinen alue. Post-inflammatorisia muutoksia on silmänpohjassa yleensä vain muutamia toisin kuin *cmr*:ssa.^{35,36} Anamneesin perusteella voidaan traumaperäiset syyt paikallisiin retinan irtaumiin sulkea pois. Silmätarkastuksessa koirilla ei todettu synnynnäisiä verkkokalvosairauksia (MRD, coloboma, stafyloma). PRAta ei koirien nuoren iän vuoksi voida vielä sulkea pois.

LÄHDEKIRJALLISUUS

1. Miyadera K, Acland GM, Aguirre GD. Genetic and phenotypic variations of inherited retinal diseases in dog: the power of within- and across- breed studies. *Mamm Genome* 2012;23:40–61.
2. Narfström K, Petersen-Jones S. Diseases of the canine ocular fundus. Kirjassa: Gelatt KN. *Veterinary ophthalmology*. Blackwell Publishing. 4. painos. Osa 1, 2007.
3. Knuutinen S. Koiran perinnöllisten silmänsairauksien geneettiset testit. *Suomen Eläinlääkäri*. 2013;1:7–13.

4. Zangerl B, Wickström K, Slavik J, Lindauer SJ, Ahonen S, Schelling C ym. Assessment of canine BEST1 variations identifies new mutations and independent bestrophinopathy model (cmr3). *Mol Vis.* 2010;16:2791–804.
5. Guziewicz KE, Zangerl B, Lindauer SJ, Mullins RF, Sandmeyer LS, Grahn BH ym. Bestrophin gene mutations cause canine multifocal retinopathy: A novel animal model for Best disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48:1959–67.
6. Guziewicz KE, Slavik J, Lindauer SJP, Aguirre G, Zangerl B. Molecular consequences of Best1 gene mutations in canine multifocal retinopathy predict functional implications for human bestrophinopathies. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52:4497–505.
7. Gornik KR, Pirie CG, Duker JS, Boudrieau RJ. Canine multifocal retinopathy caused by a Best1 mutation in a Boerboel. *Vet Ophthalmol.* 2014;17:368–72.
8. Hoffmann I, Guziewicz KE, Zangerl B, Aguirre GD, Mardin CY. Canine multifocal retinopathy in the Australian Shepherd: a case report. *Vet Ophthalmol.* 2012;15:134–8.
9. Grahn BH, Sandmeyer LL, Breaux C. Retinopathy of Coton de Tulear dogs: clinical manifestations, electroretinographic, ultrasonographic, fluorescein and indocyanine green angiographic, and optical coherence tomographic findings. *Vet Ophthalmol.* 2008;11:242–9.
10. Altaheel M, Roy Sr H. Retina: Best disease. Kirjassa: Gills J, Roy Sr H. *Ophthalmology*. Medscape Reference. WebMD. 2011. <http://emedicine.medscape.com/ophthalmology>
11. Marmorstein AD, Kinnick TR. Focus on molecules: bestrophin (Best-1). *Exp Eye* 2007;85:423–4.
12. LOVD Gene Homepage (kotisivu). Regensburg, Saksa: Institute of Human Genetics, (päivitetty maaliskuu 2013). http://www.huge.uni-regensburg.de/BEST1_database/home.php?select_db=BEST1
13. Xiao Q, Hartzell HC, Yu K. Bestrophins and retinopathies. *Pflugers Arch.* 2010;460:559–69.
14. Mansergh FC, Kenna PF, Rudolph G, Meitinger T, Farrar J, Kumar-Singh R ym. Evidence for genetic heterogeneity in Best's vitelliform macular dystrophy. *J Med Genet.* 1995;32:855–8.
15. Petrukhin K, Koisti MJ, Bakall B, Li W, Xie G, Marknell T ym. Identification of the gene responsible for Best macular dystrophy. *Nat Gen.* 1998;19:241–7.
16. Sodi A, Passerini I, Murro V, Caputo R, Bacci GM, Bodoj M ym. Best1 sequence variants in Italian patients with vitelliform macular dystrophy. *Mol Vis.* 2012;18:2736–48.
17. Oluleye TJ. Best macular dystrophy in a Nigerian: a case report. *Case Rep Ophthalmol.* 2012;3:205–8.
18. Cohn AC, Turnbull C, Ruddle JB, Gyemer RH, Kearns RS, Staffieri S ym. Best's macular dystrophy in Australia: phenotypic profile and identification of novel BEST1 mutations. *Eye* 2011;25:208–17.
19. Marmorstein AD, Marmorstein LY, Rayborn M, Wang X, Hollyfield JG, Petrukhin K. Bestrophin, the product of the Best vitelliform macular dystrophy gene (VMD2), localizes to the basolateral plasma membrane of the retinal pigment epithelium. *Proc Natl Acad Sci.* 2000;97:12758–63.
20. Hartzell C, Qu Z, Putzier I, Artinian L, Chien L-T, Cui Y. Looking chloride channels straight in the eye: bestrophins, lipofuscinosis, and retinal degeneration. *Physiology* 2005;20:292–302.
21. Mullins RF, Kuehn MH, Faidley EA, Syed NA, Stone EM. Differential macular and peripheral expression of bestrophin in human eyes and its implication for Best disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48:3372–80.
22. Guziewicz KE, Zangerl B, Komaromy AM, Iwabe S, Chiodo WA, Boye SL ym. Recombinant AAV-mediated Best1 transfer to the retinal pigment epithelium: analysis of serotype-dependent retinal effects. *Pub Lib of Sci. PLOS ONE* 2013;8:1–11.
23. Grahn BH, Philibert H, Cullen CL, Houston DM, Semple HA, Schmutz SM. Multifocal retinopathy of Great Pyrenees dogs. *Vet Ophthalmol.* 1998;1:211–21.
24. Grahn BH and Cullen CL. Retinopathy of Great Pyrenees dogs: fluorescein angiography, light microscopy and transmitting and scanning electron microscopy. *Vet Ophthalmol.* 2001;4:191–9.
25. Granh BH, Cullen CL, Wolfer J. Diagnostic ophthalmology. *Can Vet J.* 1999;40:893–4.
26. Kaiser PK. The Joy of visual perception. A Web Book. 1996. <http://www.yorku.ca/eye/thejoy.htm>
27. Samuelson DA. Ophthalmic anatomy. Kirjassa: Gelatt KN. *Veterinary ophthalmology*. Blackwell Publishing. 4. painos. Osa 1, 2007.
28. Brown M, Marmor M, Vaegan, Zrenner E, Brigell M, Bach M. ISCEV standard for clinical electro-oculography (EOG) 2006. *Doc Ophthalmol.* 2006;113:205–12.
29. Andersson DH, Guerin CJ, Erickson PA, Stern WH, Fisher SK. Morphological recovery in the reattached retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1986;27:168–83.
30. Anderson DH, Stern WH, Fisher SK, Erickson PA, Borgula GA. The onset of pigment epithelial proliferation after retinal detachment. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1981;21:10–16.
31. O'Gorman S, Flaherty WA, Fishman GA, Berson EL. Histopathologic findings in Best's vitelliform macular dystrophy. *Arch Ophthalmol.* 1988;106:1261–8.
32. Weingeist TA, Kobrin JL, Watzke RC. Histopathology of Best's macular dystrophy. *Arch Ophthalmol.* 1982;100:1108–14.
33. Boon CJF, Klevering J, den Hollander AI, Zonneveld MN, Theelen T, Cremers FBM ym. Clinical and genetic heterogeneity in multifocal vitelliform dystrophy. *Arch Ophthalmol.* 2007;125:1100–6.
34. Zhang Q, Small KW, Grossniklaus HE. Clinicopathological findings in Best vitelliform macular dystrophy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2011; 249:745–51.
35. Balicki I, Nestorowich N, Ofri R. Funduscopic abnormalities and elektroretinography in cases of retinopathy in German Shepherd dogs. *Vet Ophthalmol.* 2013;16:397–408.
36. Storey EC, Bruce GH, Alcorn J. Multifocal chorioretinal lesions in Borzoi dogs. *Vet Ophthalmol.* 2005;8:337–47.

KIITOKSET

Suuri kiitos ystävälleni Johanna Koskiahteelle artikkelin oikoluvusta.

KIRJOITTAJIEN OSOITTEET

Miia Nyrhilä, ELL
Animagi Seinäjoki, Ravitie 8B,
60120 Seinäjoki
miia.nyrhila@animagi.fi
Artikkeli on osa kirjoittajan pohjoismaista silmätarkastuseläinlääkäritutkintoa.

Sanna Elfving, ELL, pieneläinsairauksien erikoiseläinlääkäri, silmätarkastuseläinlääkäri
Hakametsän Eläinlääkäripalvelu, Tampere
Leena Ruotsalainen-Ryökkönen, ELL, silmätarkastuseläinlääkäri
Animagi HauMau, Helsinki
Elina Pietilä, ELL, Dip. ECVO, pieneläinsairauksien erikoiseläinlääkäri, kliininen opettaja, HY ELTDK, kliinisen hevos- ja pieneläintieteen osasto