

Incest a genetické zatížení

4. Příbuzenské křížení u zvířat

KATEŘINA HAMANOVÁ
VOJTĚCH HRUBAN

*/dokončení z předchozích čísel/
V minulých částech jsme se zabývali příbuzenskými svazky u člověka. Od mytologie a historie přes problematiku malých, uzavřeně žijících komunit jsme se dostali až k současnosti a dozvěděli jsme se, jak je to s příbuzenskými sňatky druhého stupně (mezi bratrance a sestřenicí) v různých kulturně i historicky odlišných částech světa. Problém příbuzenské pleměnitby se však vyskytuje i u jiných živočišných druhů. Tentokrát se proto budeme věnovat některým otázkám příbuzenského páření (inbreedingu) u zvířat domácích, laboratorních, hospodářských, ale i divoce žijících.*

Inbrední kmeny laboratorních zvířat

Všudypřítomná a vysoce adaptabilní myš, vyskytující se na všech kontinentech a ve všech zeměpisných šířkách od rovníku až za polární kruh, byla odjakživa považována za bezedného ujídače potravin. Nicméně i přes všeobecně známou škodlivost byly myši už ve starověku (v Řecku, Japonsku a Číně) chovány v zajetí. Kvůli mutacím ve zbarvení, tvaru srsti či mutacím postihujícím nervový systém („tančící myši“) byly chovány pro zábavu (viz také Vesmír 76; 145, 208, 267; 1997). Průkopníkem chovu laboratorních myší byl však až ve 20. století C. C. Little. Vytvořil první inbrední kmeny, na nichž r. 1914 prokázal, že progresivní růst nádoru, nebo naopak jeho odmítnutí je pod genetickou kontrolou. Dalším průkopníkem byl R. B. Jackson, ředitel Memorial Laboratory v Bar Harbor ve státě Main (do

INBREDNÍ MYŠI

Chov myší není finančně náročný, myši se v laboratorních podmínkách rychle množí. Mají krátký generační interval, gravidita trvá 3 týdny, mláďata vrhnou 7–8krát za rok a v jednom vrhu je 6–9 mláďat. Na základě toho lze inbredního stavu dosáhnout již za několik let. Dosažení inbrednosti však předchází zánik mnoha linií. Redukci počtu kmenů jako výsledek inbrední deprese je možné doložit z mnoha experimentů. Například dva britští genetici před 40 lety začali s 20 liniemi, rodiče těchto myší však už pocházeli z páření bratranec-sestřenice (koeficient inbreedingu byl $F = 0,125$). Dramatická změna nastala v páté generaci, kdy 15 linií zaniklo ($F = 0,703$). Ve dvacáté generaci byla hodnota koeficientu intenzity příbuzenského páření $F = 0,988$, přičemž genetici měli štěstí, neboť jim přecejena jedna linie zbyla.

r. 1956), který vytvořil rozsáhlou sbírku inbredních myší.

Přestože od 30. let jsou rodokmeny inbredních myší velmi podrobně evidovány, jejich prapůvod není zcela znám. Ve šlechtění se totiž vycházelo převážně z albinotických jedinců, kteří byli zakoupeni náhodně. Vzniku těchto myší pravděpodobně předcházela dlouhodobá selekce a inbreeding. Například některé kmeny vyšlechtěné v USA pocházely ze Švýcarska (známé jako Swiss albino). Značení kmenů je většinou odvozeno od kmenů původních (dnes jsou běžné CBA, C3H, C57, BALB/c, SWR, BSWR ad.).

Myši se rychle množí (viz rámeček na této straně), a proto lze na nich vliv inbreedingu dobře sledovat. Kmeny, v nichž jsou zvířata geneticky z velké části stejná, mohou vznikat buď opakovaným pářením sourozenců po mnoho generací, nebo zpětným pářením, při němž jsou opakovaně kříženi potomci s rodiči.

■ **Páření sourozenců.** Dosáhneme jím zvýšení homozygotnosti ve většině (nebo skoro ve všech) autozomálních genech, které měl výchozí rodičovský pár. Každá odděleně tvořená homozygotní linie má však genetický základ odlišný. Dosažení běžného inbredního stavu pářením sourozenců trvá mnoho generací, nejméně 20–30. Ani tehdy však není úplná genetická stejnost zajištěna, jen se jí přibližujeme. Při udržování inbredních kmenů po desítky až stovky generací se mohou spontánně objevovat nové genové nebo chromozomové mutace. Jejich udržováním vznikají mutantní linie, které mají rovněž neocitelný experimentální význam. Teprve po 30 generacích inbreedingu se mezi příslušníky jedné linie trvale přihojí transplantáty kůže, nedochází k odmítnutí štěpu.

■ **Páření s rodiči.** Při zpětném křížení rodičů s potomky se rovněž zvýší homozygotnost, ale i celkové genetické podobnosti různých kmenů a linií. V tomto systému křížení je totiž možné si vybírat potomky zakladatelů kmenů, kteří se liší jen v jednom genu, v jedné alele nebo v jednom chromozomovém segmentu. Opakovaným příbuzenským zpětným pářením se postupně dosáhne stavu, kdy jsou dva kmeny myší geneticky téměř shodné, liší se jen v jednom zvoleném genu (alele) či znaku. Tyto kmeny jsou označovány jako kongenní. Analyzovaným znakem může být přítomnost, či nepřítomnost některé nemoci. Po dosažení kongenního stavu jsou jednotlivé linie udržovány třeba pářením bratr-sestra.

■ **Výsledek páření.** Systémů páření a jejich kombinací je více. Výsledkem jsou však vždy nejméně dva kmeny myší, jež mají velmi podobnou genetickou skladbu, která stále ještě neodpovídá míře shody u jednovaječných dvojčat. Blíží se genetické podobnosti, ale teoreticky jí nedosahuje. Malé procento heterozygotnosti může přetrvávat velmi dlouho.

Dnes existují stovky až tisíce inbredních kmenů, linií, mutantních linií a kongenních kmenů. Obrovský přínos znamenaly pro transplantacní a vůbec imunologický výzkum, pro studium onkogeneze, vývojových defektů a poruch rozmnožování, genetických faktorů hypertenze a vzniku obezity. Nesčetněkrát byly použity k testování nových léků. Na inbredních myších byly získány desítky převratných objevů v biomedicínských oborech. Je ovšem třeba respektovat odlišnost inbredních zvířat.

Ing. Kateřina Hamanová, prof. Ing. Vojtěch Hruban, DrSc., viz Vesmír 79, 12, 2000/1

OSLABENOST INBREDNÍCH KMENŮ

Existence stovek inbredních myších kmenů svádí k domněnkám o neškodnosti inbreedingu. Nový kmen lze vytvořit bez problémů, jen když se vyjde z jedinců bez škodlivých mutací. Taková situace ale může vzniknout pouze šťastnou náhodou. Většinou dosažení úspěchu předchází dlouhodobý výběr provázený řadou neúspěchů. Kromě toho jsou všechny inbrední kmeny oproti divokým formám konstitučně oslabeny. Jsou chovány při stále teplotě a optimálním mikroklimatu, dostávají krmné granulované směsi obsahující všechny potřebné živiny a některé chovy jsou drženy dokonce ve sterilních podmínkách. „Ochranáři“, kteří vypustili pokusné myši do přírody, nevěděli, že by bylo šetrnější tato zvířata rychle zahubit. Inbrední albinotická myš má šanci ve volné přírodě přežít (i bez predátorů) asi tak jednu chladnější noc.

řat od myšek v přírodě (viz rámeček na této straně nahoře).

■ **Potkani.** Postup potkaního křížení se neliší od myšího. Řada linií je albinotických, některé jsou hnědé (norské potkaní linie). Ve světě jsou známé i pražské kongenní kmeny, které sloužily při studiu hlavního histokompatibilitního komplexu a v poslední době při studiu hypertenze (Vesmír 74, 485, 1995).

■ **Morčata, křečci, králíci.** Poměrně málo inbredních nebo kongenních kmenů máme u dalších živočichů. U inbredních morčat nebo křečků byly studovány geny potřebné pro imunitní odpověď (B. Benacerraf, Nobelova cena r. 1980). Králík je používán spíše jen k ověřování účinků nových medikamentů nebo jako producent rozličných protilátek, vakcín a jiných bioreagentů. Pár inbredních kmenů sloužilo ke studiu transplantacních reakcí. Velmi intenzivně je v poslední době studována japonská Watanabeho králíčí linie s geneticky danou vysokou hladinou lipidů a cholesterolu.

■ **Slepice.** Laboratorní označení je možné přisoudit také kongenně inbredním liniím pražských slepic. Na rozšíření jejich chovu se podílel objevitel imunologické tolerance k transplantátům Milan Hašek (1925–1984). Inbrední linie domácího kura vznikly r. 1932 v Británii. V padesátých letech byly u nás dále šlechtěny do kongenního stavu v dnešním Ústavu molekulární genetiky AV ČR. Zvláště cenné a po světě rozšířené jsou pražské rekombinantní linie. Slouží jako jedinečný model studia genetické organizace ptačího imunologického obranného systému v podobě hlavního histokompatibilitního komplexu. Pražské kongenní kmeny se liší v citlivosti k Markově chorobě (zhoubnému bujení lymfatické tkáně) a odolností k některým retrovirům způsobujícím nádorové bujení. Proto představují velmi cenný ptačí model (Vesmír 76, 425 a 489, 1997/8 a 9).

Příbuzenské páření hospodářských zvířat

U velkých hospodářských zvířat, jako jsou kůň, skot, prase, ovce či koza, nebyla nikdy vytvořena žádná čistá inbrední linie, natož pak kongenní kmeny. Dlouholeté pokusy s inbreedíngem by totiž byly nejen nesmírně drahé, ale hlavně časově náročné. Generační interval (věk prarodičů při narození vnuků) je například u koně kolem 10 let. Některé domestikované druhy mívají během gravidity jen po jednom mláděti. Selektce, která je snadná u laboratorních hlodavců, je u nich neuskutečnitelná. Kromě toho následky inbrední deprese (viz 3. část, s. 14) postihují produkční vlastnosti, kvůli nimž jsou hospodářská zvířata chována a šlechtěna.

Pokud v zootechnice mluvíme o inbreedíngu a inbredních liniích, máme na mysli někdy bližší, ně-

kdy vzdálenější příbuzenské páření používané jen příležitostně. Pozorování a získané zkušenosti o inbrední depresi pocházejí z několika málo experimentů, nanejvýš u dvou až pěti generací inbreedíngu prvního stupně.

● **Šlechtitelé v minulosti.** V 18. a 19. století se příbuzenská plemenitba občas používala bez teoretické znalosti genetiky. Pouze na základě praktických zkušeností vyšlechtili britští chovatelé Charles a Robert Collingové z hrabství Durham a Robert Bakewell z Leicestershire příbuzenskou plemenitbou různého stupně shorthonské plemeno skotu, dlouhorohý skot a leicesterské ovce. Zušlechtili také shirské chladnokrevné plemeno koní a podíleli se na šlechtění prasat yorkshirského typu a arabského koně. Inbreedíng se podílel i na vzniku jiných plemen, která buď již neexistují, nebo se vyskytují jen v určitých lokalitách (viz rámeček na této straně dole).

● **Smysl příbuzenské plemenitby.** Šlechtitelé se snaží ustálit znaky charakterizující plemeno: typ zbarvení, strakatosti, tvaru a rozsahu osrstění, velikosti těla, tvar hlavy a rohatosti, bezrohost, tvar končetin i trupu apod. Důležité je také ustálení užitkových vlastností, jako je dojivost, zmasilost, snůška vajec, produkce vlny, tažná síla či sportovní výkonnost. Zatímco u tvarových znaků a zbarvení lze díky jednoduché dědičnosti a vysoké dědivosti dosáhnout vytyčený cíl poměrně snadno a rychle, ekonomicky důležité užitkové vlastnosti jsou složitě geneticky zafixovány a inbreedíng se projeví dříve nebo později oslabením celkové zdatnosti (fitness) a poklesem užitkovosti. Proto je experimentování s inbreedíngem v běžných podmínkách živočišné produkce krajně riskantní. Sporadické pozitivní výsledky inbreedíngu bývají drtivě převáženy nepříznivými důsledky. Velmi citlivá na následky inbreedíngu jsou prasata, následují králíci, přežvýkavci a koně.

● **Rozpoznání vlastních a cizorodých genů.** Vůbec nejvyšší stupeň inbreedíngu prasat byl dosažen v Ústavu živočišné fyziologie a genetiky AV ČR v Liběchově u Mělníka. Zde byla příbuzensky pářena prasata běžného plemene Landrace a koeficient inbreedíngu u nich dosáhl hodnotu $F = 0,82$. V této linii byly sledovány přes dvě desítky genů, které během inbreedíngu ztratily genetickou variabilitu (byly v homozygotní sestavě). Výjimkou byly geny hlavního histokompatibilitního komplexu (u prasete je značen SLA), které po celou dobu příbuzenské plemenitby zůstávaly v heterozygotním stavu. Po smí-

STAROKLADRUBŠTÍ KONĚ

Hřebčín v Kladrubech založil r. 1579 Rudolf II. Šlechtili se v něm španělští a italské koně. Chov byl přerušen po požáru při oslavě vítězství nad Pruskem u Kolína r. 1757 a obnoven r. 1771. Cílem šlechtění byli karosiéři – bílé a černé zbarvení kočároví koně pro vídeňský císařský dvůr. Protože potřeba luxusních karosiérů nebyla velká a chovatelé chtěli udržet charakteristické znaky (zejména klabonosou hlavu, tj. s hrbolem nad nozdrami) i vlastnosti (typický chod), probíhala v minulém století plemenitba v mírném inbreedíngu. Po zániku habsburské monarchie a s poválečným rozvojem automobilizmu byl chov kladrubského koně zrušen. Během třicátých až padesátých let byl však obnoven z malého zbytku chovných klisen a jednoho hřebce. Muselo se přistoupit k užšímu příbuzenskému páření, které kupodivu proběhlo bez nepříznivých následků. Starokladrubští koně dnes existují, šlechtí se pro všestrannější použití a množí se dále v mírném inbreedíngu.

chání samců a samic ze stejných a rozdílných kongenních kmenů samci při kopulaci dávali přednost samicím geneticky odlišným a se shodnými se nechtěli pářit, linie zanikla v důsledku inbrední deprese.¹⁾ Tento genový komplex má důležité funkce ve spolupráci buněk imunitního systému a rozpoznávání těla vlastních struktur od cizorodých (Vesmír 69, 274, 1990/5). Jeho genetické varianty zjevně souvisejí také s produkcí specifických pachů. Proto byla vyslovena hypotéza, že nepříznivé pachové vjemy brání příbuzenskému páření, které by vedlo k zúžení genetické variability, a tím k zhoršení obranyschopnosti.

● **Pachový mechanismus u člověka.** Protože hlavní histokompatibilní komplex je u savců evolučně konzervován (mj. lidský HLA a prasečí SLA jsou strukturou a genetickou organizací velmi podobné), napadne nás, zda podobný mechanismus působí na člověka. A vskutku byl experimentálně prokázán (viz též Vesmír 76, 203, 1997/4 a 77, 595, 1998/10).²⁾ Vzhledem k hygieně a kosmetice zpravidla při výběru partnera nehraje roli (existují však pokusy dokazující jeho vliv, viz Vesmír 75, 593, 1996/10). Většinou náš čich neumí tyto podněty citlivě vnímat, zatímco potkani poznají například lidskou moč s konkrétní sadou genových produktů HLA.

Příbuzenská plemenitba ohrožených druhů zvířat

Mnohá divoce žijící zvířata, která byla ve volné přírodě rozšířena, se dnes vyskytují vzácně, popřípadě žijí v rezervacích nebo už jen v zoologické zahradě. V malých populacích mizí genetická variabilita a narůstá homozygotnost, což se většinou projeví inbrední depresí nebo vyštěpením smrtících genů (viz 3. část, s. 14). Zoologové se proto snaží zjistit, kdy populaci hrozí vymizení a jak řídit rozmnožování zvířat v zajetí tak, aby pářením nepříbuzných zvířat byla zajištěna genetická variabilita.

Někdy je možné postupovat opačně – zavést příbuzenské páření v ještě dost velké populaci (aby byl zabezpečen dostatečný výběr), odhalit škodlivé recesivní alely a eliminovat je. Je to ale nesmírně složitý úkol. Naproti hospodářským a laboratorním zvířatům, která mají za sebou desítky až stovky generací umělé selekce (a některá prošla genetickou úžinou – efektem hrdla láhve; viz Vesmír 73, 435, 1994/8), jsou zvířata v zoologických zahradách držena teprve krátkou dobu, takže pokud v přírodě neprošla soutěskou genetické variability, nesou značnou genetickou zátěž.

Každá populace je rozsahem a druhem zátěže jiná. Dosavadní záměrné i neúmyslné příbuzenské páření vedlo vždy k inbrední depresi. Ta mohla být univerzálně potvrzena u několika desítek přežvýkavců s dobře vedenými rodokmeny, zejména u zubrů, bizonů, bantenga, sibiřského kozorožce a několika druhů antilop v chicagském a washingtonském zooparku (páření sourozenců mělo za následek vysoký úhyn mláďat v rozmezí od 33 % do 100 %).

1) Chovatelé pozorovali, že kanci odmítají kopulovat s prasnicemi-sourozenci, titíž kanci se ale velmi ochotně pářili s nepřibuznými jedinci.

2) Badatel přesvědčil skupinu studentů jedné švýcarské univerzity, aby se po několik dnů nemyli, nepoužívali kosmetiku, abstinovali v milování, kouření a pití alkoholických nápojů, nejedli kořeněná jídla, a hlavně si po celou dobu nesvlékali trička. Skupina studentek k označeným nátělníkům přičichla a označila, zda je „vůně“ přijatelná, anebo jde o nepříjemný pach. Všem zúčastněným byla odebrána krev a otestována na genetické varianty genového komplexu HLA. Slečny reagovaly podobně jako samičky myši. Odpuzující odér patřil mužům, kteří měli geny HLA shodné, příjemné aroma souviselo s odlišným genotypem HLA.



Poloinbrední miniaturní laboratorní prase pocházející z linie, ve které se v důsledku příbuznosti vyskytuje zhoubný pigmentový nádor (melanom). Kvůli podobnosti nádoru s lidským jde o velmi cenný model. Prasečí nádor je léčitelný a po jeho vymizení zvířata zbělají (depigmentují) – někdy částečně, někdy totálně (původně jsou celá černá nebo hnědá).

◆ **Záchrana zvířat v zajetí** (umělá výživa mláďat apod.) vede k zachování genotypů, které by v přírodě nepřežily. Zvířata v zoo jsou chráněna před extrémním mikroklimatem i před predátory, netrpí nedostatkem potravy a šíření infekcí je omezeno. Tyto faktory sice minimalizují úhyn z negenetických příčin, ale na druhé straně se hromadí genetická zátěž. Proto jsou tato zvířata daleko citlivější na inbreeding, který přitom mnohdy bývá jedinou nadějí pro uchování populace. Rozsah a nebezpečnost dopadu inbreedingu nelze předpovědět, každá populace reaguje jinak. Existují i výjimky z výskytu fatálních následků inbrední deprese – v početně omezených populacích se například úspěšně množí Davidův asijský jelen (vyhubený v severní Číně na začátku 20. století), chillinghamský skot či novozélandská populace jelenů, která vznikla ze čtyř jedinců importovaných v minulém století. Většina vlastností, které inbreeding nepříznivě ovlivňuje, je pod složitou genetickou kontrolou, ale neznáme konkrétní geny, které tyto vlastnosti řídí, ani jejich interakce a většinou ani vliv prostředí. Proto lze těžko určit minimální rozsah životaschopné populace. Experimentální poznatky zatím jen naznačují, že uchování populace snižené na 20–50 kusů je zpravidla nemožné. Minimální životaschopný rozsah udržitelný při kontrolovaném rozmnožování chovatelem v zajetí bývá 50–500 jedinců. □