Delece v genu CACNA1F způsobuje progresivní atrofii sítnice vázanou na chromozom X u anglických kokršpanělů

Český překlad původní vědecké studie

A. Bionda[1], Luigi Liotta[2], V. Floridia[2], J. K. Niggel[3,4], D. Giretto[5], P. Crepaldi[1], G. D. Aguirre[3,4], L. Murgiano[3,4]

Originální studie: Bionda a kol. (2026), BMC Veterinary Research • DOI: 10.1186/s12917-026-05421-y

PMCID: PMC13130813 | PMID: 41882631 | Korespondenční autor: Luigi Liotta

Informace o překladu

Český překlad originálního článku; formulace byly upraveny pro srozumitelnost českým chovatelům. Nejedná se o oficiální českou verzi vydavatele. Původní článek je zpřístupněn pod licencí Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0): https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

Úvod

Progresivní atrofie sítnice (PRA) byla diagnostikována u čtyř příbuzných psů – samců plemene anglický kokršpaněl (ECS) – ve věku 3 až 4 let.

Všichni postižení psi pocházeli z klinicky zdravých rodičů, kteří byli prostřednictvím komerčních laboratoří geneticky testováni s negativními výsledky na dosud známé varianty způsobující PRA.

Analýza rodokmenů odhalila, že matky postižených psů byly polosestry po stejném otci. U jejich společného otce bylo navíc hlášeno poškození zraku.

Tato zjištění naznačovala recesivní způsob dědičnosti vázaný na chromozom X.

Výsledky

Za účelem identifikace genetické příčiny onemocnění jsme provedli mapování oblastí homozygotnosti, při kterém bylo identifikováno šest kandidátních oblastí, a následně sekvenování celého genomu.

Byla identifikována jediná varianta s předpokládaným závažným dopadem na funkci proteinu – delece jednoho páru bází (1 bp) v exonu 36 genu *CACNA1F*, který se nachází na chromozomu X (UU_Cfam_GSD_1.0, NC_049260.1, g.42,516,353del).

Předpokládá se, že tato genetická varianta způsobuje posun čtecího rámce (frameshift) a vznik předčasného stop kodonu, což vede k předčasnému ukončení syntézy bílkoviny (XM_038587436.1, c.4,481del, XP_038443364.1:p.Phe1482LeufsTer8).

Tato varianta byla nalezena v hemizygotním stavu u všech postižených psů (samců) a v heterozygotním stavu u jejich matek. Naproti tomu u otců postižených psů ani u zdravých kontrolních jedinců zjištěna nebyla.

Byl vyvinut specifický genetický test založený na metodě PCR, který byl následně použit k vyšetření širší skupiny 92 příbuzných i nepříbuzných anglických kokršpanělů. Výsledky potvrdily, že se tato genetická varianta dědí v souladu s pozorovaným výskytem onemocnění v rodokmenech.

Vysvětlení odborných pojmů

- Hemizygotní stav – pes (samec) má pouze jednu kopii chromozomu X. Pokud je na ní přítomna tato patogenní varianta, nemá druhou zdravou kopii genu, která by její funkci kompenzovala.
- Heterozygotní stav – fena má jednu kopii genu s danou variantou a druhou bez ní. V případě recesivní dědičnosti vázané na chromozom X se taková fena označuje jako přenašečka.
- Posun čtecího rámce – ztráta jediného nukleotidu změní způsob, jakým se genetická informace čte. To může zásadně narušit strukturu a funkci výsledné bílkoviny.

Závěry

Tato studie identifikovala novou variantu genu *CACNA1F*, která se v rodokmenech dědí společně s onemocněním a je pravděpodobně zodpovědná za recesivní formu progresivní atrofie sítnice (PRA) vázanou na chromozom X u anglických kokršpanělů.

Vzhledem k tomu, že gen *CACNA1F* je již spojován s onemocněními sítnice u jiných savců, včetně člověka, tento objev dále potvrzuje jeho význam napříč živočišnými druhy.

Studie zdůrazňuje, jak důležité je, aby chovatelé zajistili pravidelná zdravotní vyšetření svých psů, zejména s ohledem na onemocnění projevující se až v pozdějším věku, a aby neprodleně hlásili výskyt dědičných onemocnění s dosud neznámou příčinou. Takový přístup umožňuje rychlejší odhalení jejich genetických příčin.

Autoři doporučují vývoj a zavedení specifických genetických screeningových testů, které umožní zjistit četnost výskytu této varianty v populaci anglických kokršpanělů i v dalších populacích, poskytnou podklady pro rozhodování o chovatelských strategiích a pomohou zabránit dalšímu šíření této škodlivé genetické varianty.

Doplňující informace

Online verze článku obsahuje doplňující materiály, které jsou dostupné pod DOI: 10.1186/s12917-026-05421-y.

Klíčová slova: Progresivní atrofie sítnice, pes, *CACNA1F*, dědičnost vázaná na chromozom X, anglický kokršpaněl.

Úvod

Progresivní atrofie sítnice (PRA) označuje skupinu dědičných onemocnění sítnice, která se vyznačují postupnou oboustrannou degenerací fotoreceptorů (světločivných buněk sítnice), vedoucí nakonec ke ztrátě zraku. Tato onemocnění jsou z genetického i klinického hlediska podobná retinitis pigmentosa (RP) u člověka. Pro obě onemocnění je charakteristická degenerace fotoreceptorů, která nejprve postihuje tyčinky a následně, s různě dlouhým časovým odstupem, také čípky [1–3].

Přestože podobnost mezi těmito onemocněními u člověka a psa byla rozpoznána již v polovině 20. století [4], první genetická varianta spojená s PRA byla identifikována až koncem 80. let 20. století u plemene irský setr. Jednalo se o variantu genu *PDE6B* (OMIA:000882–9615) [5].

Od té doby bylo u psů identifikováno více než 31 genetických variant ve 24 genech, které souvisejí s onemocněními sítnice. Většina z nich vykazuje autozomálně recesivní způsob dědičnosti [6].

Nejrozšířenější formou PRA je onemocnění způsobené variantou c.5G>A v genu *PRCD* (Photoreceptor Disc Component; OMIA:001298–9615), která byla zjištěna také u některých lidských pacientů s retinitis pigmentosa. Tato varianta postihuje více než 50 plemen psů, což naznačuje, že pravděpodobně pochází od dávného společného předka [7].

Kromě autozomálně recesivních forem existují u psů i lidí také autozomálně dominantní formy PRA [8] a formy PRA vázané na chromozom X (XLPRA).

U psů byly popsány dvě hlavní formy XLPRA, přičemž obě jsou způsobeny delecemi v oblasti ORF15 genu *RPGR* (Retinitis Pigmentosa GTPase Regulator):

- XLPRA1 – byla zjištěna u sibiřských huskyů, samojedů a výmarských ohařů [9–11].
- XLPRA2 – byla původně identifikována u psů smíšených plemen (kříženců) [11].

(OMIA:000831–9615, OMIA:001518–9615, OMIA:001432–9615)

Z klinického hlediska se PRA obvykle nejprve projevuje šeroslepostí (nyktalopií), tedy zhoršeným viděním za šera a ve tmě, a postupně vede až k úplné ztrátě zraku.

Při oftalmologickém vyšetření patří mezi charakteristické nálezy zvýšená odrazivost tapeta (tapetální hyperreflektivita), zúžení povrchových cév sítnice a sekundární atrofie terče zrakového nervu [12].

Funkční vyšetření pomocí elektroretinografie (ERG) obvykle prokazuje výrazné snížení aktivity fotoreceptorů. Porucha funkce tyčinek se zpravidla objevuje dříve a bývá závažnější než postižení čípků [11, 13–15].

Dosud je známo více než 100 plemen psů a jejich kříženců, u kterých se vyskytují různé formy PRA [5].

Přestože jsou klinické příznaky jednotlivých forem PRA podobné, věk, ve kterém se onemocnění projeví, i rychlost jeho progrese se mezi jednotlivými plemeny a genetickými variantami výrazně liší. Rozdíly v klinických projevech lze navíc pozorovat i mezi jedinci stejného plemene, kteří nesou totožnou genetickou variantu [1, 15, 16].

Anglický kokršpaněl (ECS) patří mezi plemena se zvýšenou predispozicí k PRA. Většina případů tohoto onemocnění je spojena s variantou c.5G>A v genu *PRCD* (OMIA:001298–9615) [15, 17].

Několik studií uvádí frekvenci této alely v různých zemích v rozmezí 7–34 % [18–21]. Nedávná studie zahrnující 77 italských anglických kokršpanělů zjistila frekvenci této alely ve výši 14 % [22].

Některé studie porovnávající výsledky genetických testů s klinickou diagnózou však zjistily, že ne všichni angličtí kokršpanělé s klinicky potvrzenou PRA byli homozygotní pro variantu v genu *PRCD* [23]. To naznačuje, že se na vzniku tohoto onemocnění u plemene podílejí i další genetické varianty [19].

Studie zabývající se rozsáhlou skupinou psů různých plemen identifikovala u 579 vyšetřených anglických kokršpanělů kromě varianty v genu *PRCD* (s prevalencí 9,5 %) také další variantu (OMIA:001432–9615) v genu *RPGRIP1* (*RPGR* Interacting Protein 1), která je zodpovědná za dystrofii čípků a tyčinek [19].

Identifikace dosud neznámých genetických variant způsobujících PRA a vývoj odpovídajících genetických testů mají zásadní význam. Umožňují předcházet výskytu dědičných onemocnění vedoucích ke slepotě prostřednictvím genetického testování a zároveň přispívají k vývoji možností léčby těchto onemocnění, které jsou v současnosti velmi omezené.

Cílem této studie je prozkoumat genetickou příčinu nové formy PRA u anglických kokršpanělů, na kterou výzkumníky upozornil italský chovatel. Ten zaznamenal případy PRA u psů narozených rodičům, kteří byli geneticky testováni s negativním výsledkem na *PRCD*-PRA i další známé genetické varianty způsobující onemocnění sítnice.

Poznámka mimo překlad: Je nutné rozlišovat frekvenci alely a prevalenci onemocnění. Uvedených 14 % označuje frekvenci alely, nikoli podíl psů nemocných PRA.

Materiál a metodika

Etické aspekty studie

V případě psů pocházejících z USA byly výzkum a vyšetření prováděny v plném souladu se zásadami Asociace pro výzkum zraku a oftalmologie (Association for Research in Vision and Ophthalmology, ARVO), konkrétně s dokumentem „Resolution on the Use of Animals in Ophthalmic and Vision Research“, který stanovuje pravidla pro využívání zvířat v oftalmologickém výzkumu a výzkumu zraku.

Výzkumný protokol byl schválen institucionální komisí pro péči o zvířata a jejich využívání ve výzkumu (Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC) Pensylvánské univerzity pod číslem 806301.

V případě italských psů nebylo schválení etickou komisí vyžadováno, protože údaje o jejich očním zdraví pocházely z dobrovolných vyšetření, která si majitelé a chovatelé nechali nezávisle provést.

Genetické analýzy byly provedeny s využitím biologických vzorků, které byly již dříve uloženy u Italského kynologického svazu (ENCI) v souladu s technickými předpisy italské plemenné knihy.

Žádné zákroky nebyly prováděny výhradně pro účely výzkumu a autoři studie sami se psy přímo nemanipulovali ani jim neodebírali biologické vzorky.

Hodnocení klinických projevů

Psi zařazení do studie byli vyšetřeni veterinárními oftalmology s evropskou specializací ECVO (European College of Veterinary Ophthalmologists) nebo veterinárními lékaři se zkušenostmi s klinickým oftalmologickým vyšetřováním a diagnostikou očních onemocnění.

Vyšetření zahrnovala rozšíření zornic pomocí mydriatik, biomikroskopii a nepřímou oftalmoskopii.

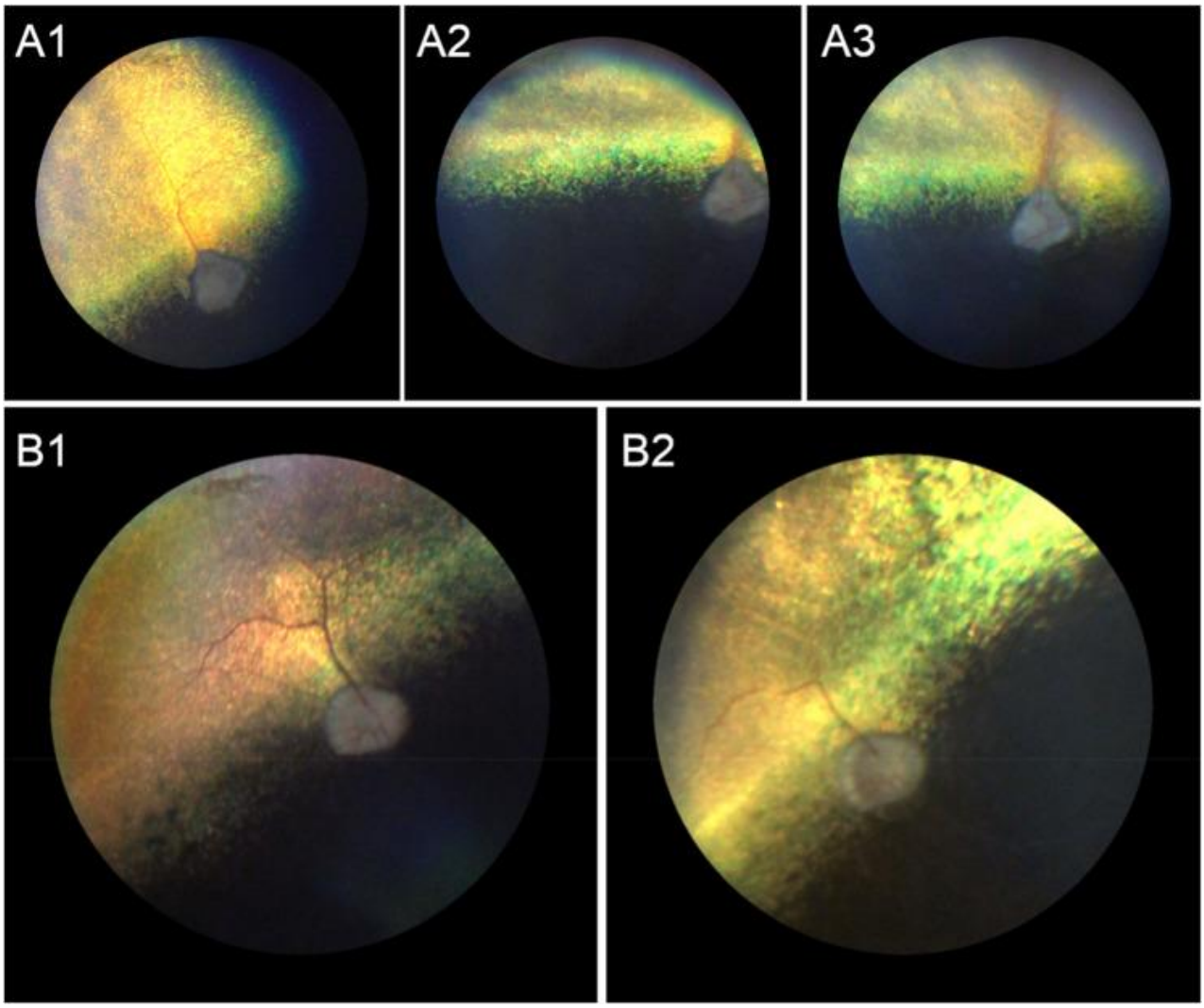
Ve vybraných případech byla pro podrobnější dokumentaci klinických nálezů pořízena také fotografická dokumentace očního pozadí (obr. 1).

Většina psů zařazených do studie pocházela od stejného chovatele a byla vzájemně příbuzná.

Zpočátku byli tito psi vyšetřováni proto, že se u některých z nich projevovaly různé stupně zhoršení zraku, nikoliv v rámci pravidelného preventivního programu zaměřeného na odhalování dědičných očních onemocnění.

Poté, co byla u části psů stanovena diagnóza, byla provedena analýza rodokmenů s cílem identifikovat další potenciálně postižené jedince. Následně byla klinická vyšetření rozšířena na větší skupinu psů.

Obrázek 1. Klinické změny na sítnici



Fotografie očního pozadí dvou postižených anglických kokršpanělů ze stejného vrhu – ECS86 (levé oko: A1–A3) a ECS87 (pravé oko: B1–B2).

Snímky byly pořízeny ve věku 3,5 roku (A1, B1) a 4,3 roku (A2–A3, B2).

Fotografie zachycují charakteristické nálezy odpovídající pokročilému stadiu degenerace sítnice: zvýšenou odrazivost tapeta (tapetální hyperreflektivitu), zúžení cév sítnice (výraznější u psa ECS86) a bledost terče zrakového nervu.

OD = pravé oko (oculus dexter)

OS = levé oko (oculus sinister)

Odběr vzorků

Pro studii byla použita genomová DNA získaná z krevních vzorků celkem 95 anglických kokršpanělů. Soubor zahrnoval 4 postižené jedince, 11 zdravých sourozenců nebo polosourozenců, 4 zdravé rodiče a 3 předky.

Z těchto psů pocházelo 51 z Evropy (Itálie), včetně všech postižených jedinců a jejich příbuzných. Rodokmeny všech těchto psů byly získány z databáze Italského kynologického svazu (ENCI).

První vzorky italských psů poskytli majitelé postižených jedinců. Další vzorky příbuzných psů, identifikovaných na základě analýzy rodokmenů, poskytly akreditované laboratoře ENCI, kde byly krevní vzorky uchovávány v souladu s předpisy italské plemenné knihy.

Další kontrolní vzorky anglických kokršpanělů ze Severní Ameriky poskytla laboratoř Pensylvánské univerzity. Konkrétně se jednalo o veřejně dostupné kontrolní vzorky, které jsou součástí projektu BioProject PRJNA937381 (doplňkový soubor S1).

DNA byla izolována pomocí soupravy Illustra DNA Extraction Kit BACC2 (GE Healthcare) podle pokynů výrobce.

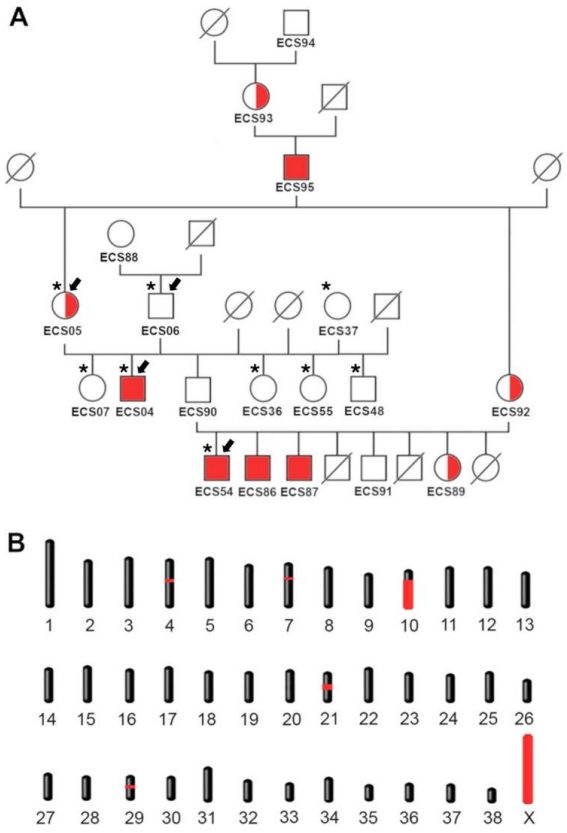
Identifikace genetické varianty způsobující onemocnění

Genotypizace a mapování oblastí homozygotnosti

Genotypizace byla provedena u 9 anglických kokršpanělů – 2 původně identifikovaných postižených jedinců, 2 zdravých rodičů a dalších 5 příbuzných zdravých psů (na obr. 2A označených hvězdičkou).

K analýze byl použit čip Illumina Canine SNP 220K, umožňující vyšetření přibližně 220 000 jednonukleotidových polymorfismů (SNP) v genomu psa. Vyšetření probíhalo podle standardních postupů doporučených výrobcem.

Obrázek 2. Rodokmen a mapování kandidátních oblastí



A – Rodokmen postižených jedinců

Čtyři postižení psi (ECS04, ECS54, ECS86 a ECS87), u nichž byla genetická varianta zjištěna v hemizygotním stavu, a jejich společný předek (ECS95), rovněž hemizygotní pro tuto variantu, jsou označeni červeně vyplněnými symboly.

Geneticky vyšetřené feny – přenašečky (ECS05, ECS89, ECS92 a ECS93) – jsou označeny napůl vyplněnými symboly. Kontrolní jedinci s normálním genotypem (bez sledované varianty) jsou znázorněni prázdnými symboly.

Samci jsou označeni čtvercem, samice kruhem. Psi, od kterých nebyl k dispozici biologický vzorek, jsou označeni symbolem přeškrtnutým diagonální čarou.

Je třeba zdůraznit, že u společného předka matek postižených psů (ECS95) bylo hlášeno zhoršení zraku.

Jedinci, u nichž bylo provedeno sekvenování celého genomu, jsou označeni šipkami. Psi, kteří byli genotypizováni pomocí SNP čipu, jsou označeni hvězdičkami.

B – Mapování kandidátních oblastí

Červeně jsou zvýrazněny oblasti homozygotnosti na autozomech (nepohlavních chromozomech), které byly zjištěny výhradně u postižených jedinců, a chromozom X.

Mapování oblastí homozygotnosti u 9 genotypizovaných psů bylo provedeno pomocí programu PLINK v1.9 [24] s cílem identifikovat rozsáhlé úseky homozygotnosti se společnými alelami.

Pro sloučení dat z několika skupin genotypizovaných psů byl použit příkaz --merge a pro filtrování dat parametr --geno 0.1. Po filtraci zůstalo pro další analýzu 211 122 genetických markerů.

Analýza homozygotnosti byla provedena pomocí příkazů --homozyg a --homozyg group se standardním nastavením parametrů.

Vzhledem k tomu, že nebylo možné vyloučit dědičnost vázanou na chromozom X, byl celý chromozom X psa (CFA X) automaticky zahrnut mezi kandidátní oblasti.

Genomové pozice původně určené podle referenčního genomu CanFam3.1 byly převedeny na souřadnice referenčního genomu CanFam4 pomocí nástroje UCSC LiftOver (https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgLiftOver, přístup dne 27. ledna 2026).

Sekvenování celého genomu

U dvou výše popsaných postižených psů a obou rodičů jednoho z nich (na obr. 2A označených šipkami) byly připraveny knihovny DNA bez použití PCR následujícím způsobem.

Byly připraveny sekvenační knihovny s délkou vložených fragmentů 300 párů bází (bp), které byly následně sekvenovány na přístroji Illumina NovaSeq 6000 metodou párového čtení (paired-end) s délkou 2 × 100 bp.

Soubory ve formátu FASTQ byly vytvořeny pomocí programu Casava 1.8. Celkem bylo získáno a úspěšně namapováno 1,5 miliardy sekvenačních čtení o délce 100 bp, což odpovídalo průměrné hloubce pokrytí genomu přibližně 30× u postižených psů a 22× u jejich rodičů.

Párová sekvenační čtení byla mapována na referenční genom psa UU_Cfam_GSD_1.0 (CanFam4). Výsledné soubory BAM byly následně zpracovány podle dříve popsaného postupu [25].

Detekce jednonukleotidových variant (SNV) a krátkých inzercí a delecí (indelů)

K identifikaci genetických variant byl použit software GATK (verze 4.2.3.0) [26] s nástrojem HaplotypeCaller, podle dříve popsaného postupu [25].

K vyhodnocení předpokládaného funkčního dopadu zjištěných variant byl použit program SnpEff v5.4 [27].

Kandidátní genetické varianty nacházející se v identifikovaných kandidátních oblastech (homozygotních úsecích autozomů nebo na chromozomu X) byly filtrovány porovnáním s databází Dog10k [28], která obsahovala také údaje o třech anglických kokršpanělech.

Další vyhledávání bylo provedeno v databázi European Variation Archive (EVA) prostřednictvím nástroje Variant Browser (https://www.ebi.ac.uk/eva/, přístup dne 9. srpna 2025).

Identifikace strukturních variant

K identifikaci duplikací, inverzí, translokací, inzercí a delecí byl použit program Delly2 [29].

Jako kontrolní vzorky byly použity soubory BAM nepříbuzných psů pocházejících z jiných studií provedených výzkumným týmem autorů nebo z databáze Dog10k [30, 31].

Analýzy jednotlivých typů strukturních variant – delecí, inzercí, inverzí, translokací a duplikací – byly prováděny samostatně u každého ze čtyř sekvenovaných psů.

Všechny tyto analýzy byly zaměřeny na kandidátní oblasti identifikované předchozím genetickým mapováním.

Analýza delece jednoho páru bází v exonu 36 a její potvrzení Sangerovým sekvenováním

Delece jednoho páru bází (1 bp) v genu *CACNA1F* (Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 F), který kóduje podjednotku alfa-1F napěťově řízeného vápníkového kanálu, byla znovu analyzována u postižených psů a dostupných kontrolních jedinců.

K ověření této genetické varianty byla použita cílená PCR následovaná Sangerovým sekvenováním.

PCR primery byly navrženy pomocí programu PRIMER3 [32].

Pro amplifikaci úseku DNA obsahujícího deleci jednoho páru bází v exonu 36 byly použity následující primery, které ohraničovaly sledovanou oblast:

- Dopředný primer (F): 5'-TGTGTGTGGTGGTGGACAG-3' (chrX:42,516,252–42,516,270)
- Zpětný primer (R): 5'-GACTCTACCAGCTCAGCAC-3' (chrX:42,516,485–42,516,503)

Všechny uvedené genomové souřadnice odpovídají referenčnímu genomu CanFam4.

PCR byla provedena s použitím reakční směsi AmpliTaqGold360MasterMix (Life Technologies, Carlsbad, Kalifornie, USA).

Produkty PCR byly analyzovány elektroforézou v 1,2% agarózovém gelu obsahujícím ethidiumbromid v koncentraci 0,5 µg/ml.

Amplifikovaný úsek DNA (amplikon) odpovídající normální variantě genu (wild-type, tedy bez sledované delece) měl délku 252 párů bází a zahrnoval oblast chromozomu X od pozice 42 516 252 do pozice 42 516 503.

Elektroferogramy získané Sangerovým sekvenováním byly vyhodnoceny pomocí programu 4Peaks (https://nucleobytes.com/4peaks/, přístup dne 8. září 2025).

Výsledky

Charakteristika klinických projevů onemocnění

Na dva samce plemene anglický kokršpaněl (ECS86 a ECS87) jsme byli upozorněni, protože vykazovali známky postupně se rozvíjející poruchy zraku. První klinické změny na sítnici byly zaznamenány přibližně ve věku 3–4 let (obr. 1).

Vzhledem k tomu, že již ve věku 3,5 roku bylo onemocnění v pokročilém stadiu, je velmi pravděpodobné, že patologické změny začaly vznikat podstatně dříve.

Oba postižení psi pocházeli ze stejného vrhu a podobné klinické příznaky vykazoval také jejich další sourozenec (ECS54) (obr. 2A). Jejich rodiče byli podle dostupných informací klinicky zdraví a geneticky negativní na variantu v genu *PRCD*.

Při následném vyšetření, provedeném o 9 měsíců později, bylo zjištěno, že onemocnění v pokročilém stadiu vykazovalo jen velmi mírnou, případně žádnou další progresi.

V takto pokročilých stadiích je však obtížné posoudit další vývoj onemocnění, protože rychlost úbytku buněk se zpomaluje v okamžiku, kdy se vnější jaderná vrstva sítnice (Outer Nuclear Layer, ONL) ztenčí na tloušťku odpovídající pouze jedné až dvěma vrstvám buněčných jader [33, 34].

Informace o oftalmologických vyšetřeních feny ECS92 (matky postižených psů ECS86, ECS87 a ECS54) byly získány od jejího majitele, který poskytl certifikáty z každoročních vyšetření očí prováděných certifikovaným veterinárním specialistou.

Tato vyšetření byla zaměřena na odhalení vrozených a dědičných onemocnění očí a sítnice a na oficiální potvrzení jejich nepřítomnosti.

Všechna vyšetření opakovaně potvrdila, že fena ECS92 nevykazovala žádné změny svědčící o dědičném onemocnění sítnice.

Ve zdravotní dokumentaci navíc nebyly žádné záznamy o tom, že by u ní byla pozorována nebo předpokládána ložisková degenerace sítnice

Odběr vzorků a rekonstrukce rodokmenu

Krevní vzorky byly odebrány dvěma vyšetřovaným postiženým psům, jejich příbuzným a dalším jedincům vykazujícím atrofii sítnice (obr. 2A).

Konkrétně jsme získali krevní vzorky od postiženého psa ECS04, jeho zdravých rodičů (ECS05 a ECS06), zdravé babičky z otcovy strany (ECS88) a sourozence ze stejného vrhu (ECS07), který byl na základě očního vyšetření provedeného certifikovaným veterinárním oftalmologem vyhodnocen jako zdravý.

Dále byly odebrány vzorky postiženému psovi ECS54, jeho dvěma postiženým bratrům (ECS86 a ECS87) a dvěma zdravým sourozencům ze stejného vrhu (feně ECS89 a psovi ECS91), stejně jako rodičům tohoto vrhu (ECS90 a ECS92).

Vzorky byly rovněž získány od společného dědečka všech postižených psů z matčiny strany (ECS95, tedy otce fen ECS05 a ECS92), jeho matky (ECS93) a jeho dědečka z matčiny strany (ECS94, tedy otce feny ECS93).

Následně jsme do studie zahrnuli dalších 36 zdravých italských psů, kteří se narodili ve stejné chovatelské stanici nebo v ní byli využiti k chovu a byli v různém stupni příbuzní s postiženými jedinci (doplňkový soubor S2, rozšířený rodokmen).

Dále bylo zařazeno 44 nepříbuzných zdravých psů z USA a pět nepříbuzných jedinců vykazujících příznaky PRA.

U těchto pěti psů však byla genetickým vyšetřením prokázána homozygotní přítomnost již známé varianty c.5G>A v genu *PRCD*, která způsobuje PRA. Tito jedinci proto byli ze studie vyloučeni, protože genetická příčina jejich onemocnění již byla známá.

Důležité je, že žádný z ostatních psů zařazených do studie, včetně všech postižených jedinců, nebyl nositelem varianty v genu *PRCD*.

Celkem tedy byli vyšetřováni čtyři psi postižení zkoumanou formou PRA.

Informace získané o jejich nejbližších příbuzných ukázaly, že rodiče všech postižených psů byli klinicky zdraví.

Rekonstrukce rodokmenu umožnila identifikovat společného předka všech postižených jedinců – jejich dědečka z matčiny strany. Zajímavé je, že u tohoto psa bylo podle dostupných informací pozorováno zhoršení zraku (obr. 2A).

Na základě údajů o nejbližších příbuzných se jako jedna z možných variant jevil autozomálně recesivní způsob dědičnosti.

Vzhledem k tomu, že rodiče postižených psů byli klinicky zdraví, považovali jsme autozomálně dominantní způsob dědičnosti s úplnou penetrancí za nepravděpodobný.

Recesivní dědičnost vázaná na chromozom X se však jevila jako reálná možnost, protože mezi postiženými jedinci ve zkoumané skupině výrazně převažovali samci.

Genetické mapování

V prvním kroku bylo použito mapování oblastí homozygotnosti s cílem identifikovat úsek genomu obsahující genetickou variantu způsobující onemocnění.

Pomocí SNP čipu Illumina Canine 220K bylo nejprve genotypizováno devět anglických kokršpanělů z Itálie: dva postižení psi (ECS04 a ECS54), dva zdraví rodiče (ECS05 a ECS06), jeden zdravý sourozenec (ECS07), dva zdraví polosourozenci (ECS55 a ECS36) a dva další zdraví příbuzní psi (ECS37 a ECS48; obr. 2A, doplňkový soubor S2).

Za předpokladu monogenní recesivní dědičnosti, tedy dědičnosti podmíněné jediným genem, jsme u postižených psů hledali homozygotní oblasti chromozomů delší než 1 milion párů bází (1 Mb), které byly zděděny od společného předka a byly tedy identické původem (identical by descent, IBD).

Vzhledem k možnosti dědičnosti vázané na chromozom X jsme mezi potenciální kandidátní oblasti zahrnuli také celý chromozom X psa (CFAX).

Nakonec byly kandidátní oblasti identifikovány na chromozomech CFA4, CFA7, CFA10, CFA21, CFA29 a CFAX (obr. 2B).

Po potvrzení kandidátních homozygotních oblastí na autozomech a zahrnutí chromozomu X byly jejich genomové souřadnice převedeny z referenčního genomu CanFam3.1 na referenční genom UU_Cfam_GSD_1.0 (CanFam4), který je využíván v databázi Dog10k.

Všechny identifikované homozygotní oblasti byly zahrnuty mezi kandidátní úseky genomu, jak je uvedeno v tabulce 1.

Žádné další oblasti, které by byly společné všem postiženým psům, ale současně se nevyskytovaly u kontrolních jedinců, nebyly nalezeny.

Výsledky mapování homozygotnosti jsou znázorněny na obrázku 2B, kde jsou všechny identifikované společné oblasti zvýrazněny červeně.

Tabulka 1. Kandidátní oblasti identifikované mapováním homozygotnosti

Kandidátní úseky genomu identifikované pomocí mapování homozygotnosti u postižených a zdravých příbuzných psů.

Bylo identifikováno pět kandidátních homozygotních oblastí na autozomech, které byly společné postiženým jedincům, ale nevyskytovaly se u kontrolních psů. Jako další potenciální kandidátní oblast byl zahrnut celý chromozom X.

Všechny genomové souřadnice jsou uvedeny podle referenčního genomu CanFam4.

Chromozom	Začátek (bp)	Konec (bp)
chr4	31 342 838	34 222 026
chr7	41 518 928	42 442 001
chr10	13 529 131	70 640 185
chr21	18 879 226	30 510 868
chr29	16 521 663	21 420 081
chrX	1	124 992 030

bp = pár bází (base pair), jednotka používaná k označení délky nebo polohy úseků DNA.

Detekce genetických variant a genotypizace

Bylo provedeno sekvenování celého genomu jednoho postiženého psa (ECS04), jeho rodičů (ECS05 a ECS06) a dalšího postiženého psa (ECS54).

Získaná sekvenační čtení byla mapována na referenční genom UU_Cfam_GSD_1.0 (CanFam4) a identifikované genetické varianty byly následně filtrovány porovnáním s databází.

Po filtraci jednonukleotidových variant (SNP) a krátkých inzercí a delecí (indelů) jsme dále zkoumali přítomnost rozsáhlejších delecí, inzercí, inverzí, duplikací a translokací.

Zjištěné varianty byly opět filtrovány porovnáním s kontrolními daty získanými v naší laboratoři v rámci jiných studií a s databází Dog10k, která využívá referenční genom UU_Cfam_GSD_1.0 (CanFam4).

Při filtraci byly zvažovány dva možné způsoby dědičnosti:

- Autozomálně recesivní dědičnost – předpokládala se homozygotní přítomnost genetické varianty u obou postižených psů a heterozygotní stav u rodičů.
- Recesivní dědičnost vázaná na chromozom X – vzhledem k tomu, že oba rodiče byli klinicky zdraví, byly hledány varianty, které se nevyskytovaly u otce.

Po dokončení filtrace zůstalo 285 jednonukleotidových variant (SNV) a krátkých inzercí či delecí (indelů), které připadaly v úvahu jako možné příčiny onemocnění.

Z těchto variant se 284 nacházelo v nekódujících oblastech DNA. Byla však identifikována jediná zvláště významná varianta v kódující oblasti genu, u níž se předpokládal závažný dopad na funkci výsledné bílkoviny.

Tato varianta byla nalezena pouze u sekvenovaných anglických kokršpanělů zařazených do studie a nebyla zjištěna u žádného z kontrolních psů sekvenovaných v laboratoři autorů ani v dostupných databázích.

Jednalo se o deleci jednoho páru bází (1 bp) v kódující oblasti genu *CACNA1F*, konkrétně v exonu 36, která se u postižených psů nacházela v hemizygotním stavu.

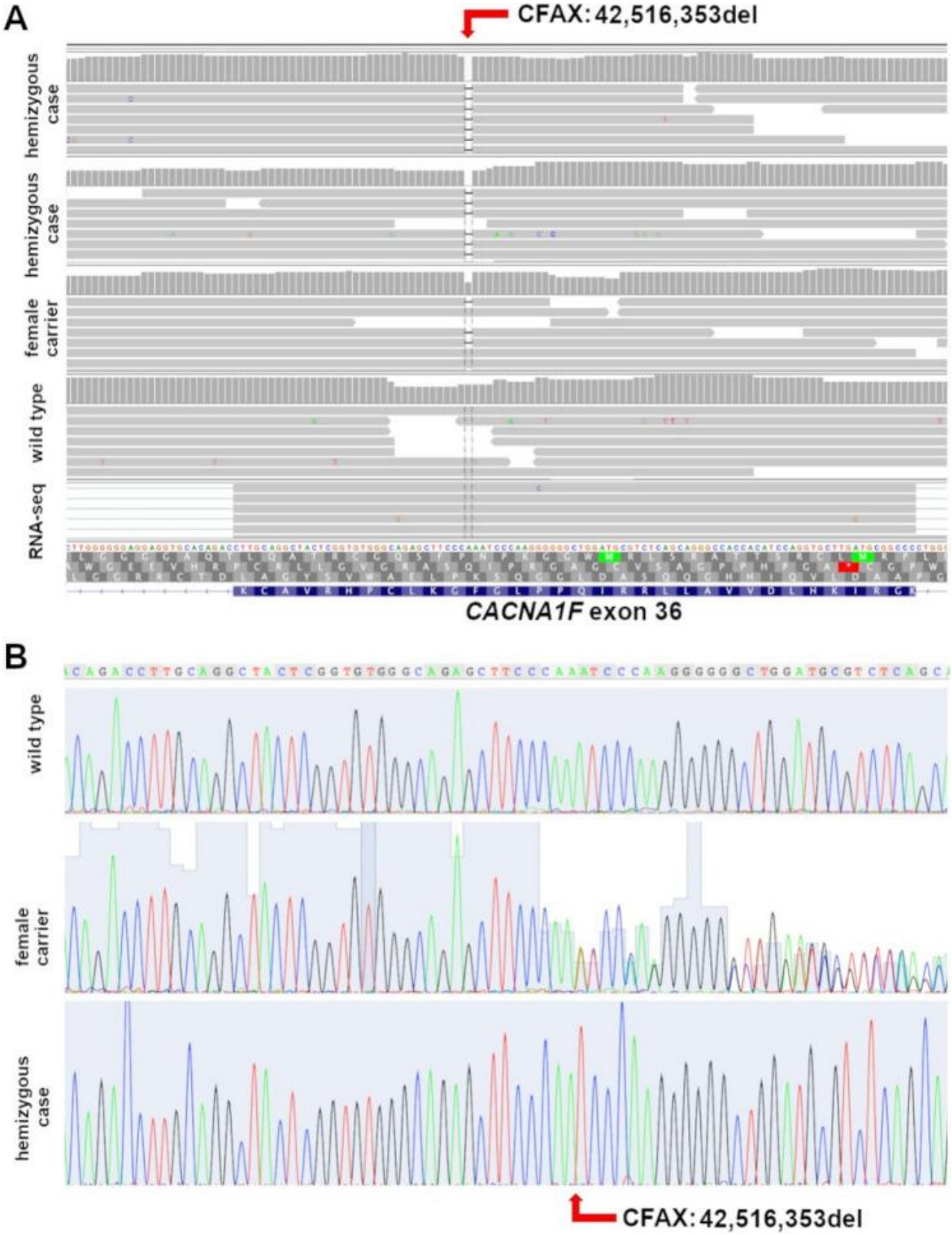
Tato delece byla lokalizována na chromozomu X, na pozici 42 516 353 podle referenčního genomu UU_Cfam_GSD_1.0 (NC_049260.1:g.42,516,353del; obr. 3).

V kandidátních oblastech nebyly identifikovány žádné další strukturní varianty zasahující do kódujících oblastí genů, které by splňovaly stanovená kritéria filtrace.

Porovnáním zjištěné varianty s anotovanou sekvencí RNA transkriptu (XM_038587436.1, c.4,481del; databáze NCBI, přístup dne 27. ledna 2026) a odpovídající bílkoviny (XP_038443364.1, psí *CACNA1F*, izoforma X1; databáze NCBI, přístup dne 27. ledna 2026) jsme dospěli k závěru, že tato delece pravděpodobně způsobuje posun čtecího rámce (frameshift) a vznik předčasného stop kodonu (p.Phe1482LeufsTer8; doplňkový soubor S3).

V důsledku této změny dochází ke ztrátě přibližně 25 % původní bílkoviny, konkrétně její koncové oblasti (C-terminální části).

Obrázek 3. Sekvenování předpokládané genetické varianty způsobující onemocnění



Předpokládaná genetická varianta zodpovědná za onemocnění je označena červenou šipkou.

A – Sekvenování celého genomu

Výsledky sekvenování celého genomu dvou postižených psů (ECS04 a ECS54), matky psa ECS04 (ECS05, u níž bylo potvrzeno přenašečství) a otce psa ECS04 (ECS06, který sloužil jako kontrolní jedinec).

Součástí zobrazení jsou také data ze sekvenování RNA sítnice (RNA-seq) nepříbuzného jedince, která potvrzují přítomnost sledovaného exonu a odpovídajícího transkriptu v sítnici.

Výsledky jsou zobrazeny v programu Integrative Genomics Viewer (IGV).

Pozornost je třeba věnovat deleci jednoho páru bází (1 bp) na chromozomu X, na pozici 42 516 353 (CFAX, 42,516,353del; souřadnice podle referenčního genomu CanFam4).

B – Sangerovo sekvenování

Výsledky Sangerova sekvenování zobrazují:

- Nahoře: kontrolního jedince s normálním genotypem (wild-type), bez sledované delece.
- Uprostřed: klinicky zdravou fenu – přenašečku, která má jednu kopii genu s delecí a druhou bez ní.
- Dole: postiženého psa (samce), u kterého je delece přítomna v hemizygotním stavu.

Sekvenování prokazuje deleci adeninu (A) v kódující sekvenci genu.

Vzhledem k tomu, že tato genetická varianta způsobuje v hemizygotním stavu posun čtecího rámce v genu, který je exprimován v sítnici a který je u člověka spojován s onemocněním sítnice, dospěli jsme k závěru, že jsme s vysokou pravděpodobností identifikovali genetickou variantu způsobující toto onemocnění.

Proto jsme navrhli PCR test využívající dva primery, který umožnil sekvenování DNA všech dostupných postižených anglických kokršpanělů i kontrolních jedinců (obr. 2A, tabulka 2 a doplňkový soubor S4).

Výsledky potvrdily, že sledovaná genetická varianta se v rodokmenu dědí společně s onemocněním (kosegregace).

Následně byl sestaven rozšířený rodokmen, který zachycuje výsledky genetického vyšetření všech testovaných psů a jejich vzájemné příbuzenské vztahy (doplňkový soubor S2).

Tabulka 2. Výskyt sledované varianty genu CACNA1F u anglických kokršpanělů a dalších plemen

Rozložení předpokládané genetické varianty způsobující onemocnění v genu *CACNA1F* ve zkoumaném souboru anglických kokršpanělů a v databázi genetických variant psů různých plemen.

Je důležité zdůraznit, že mezi geneticky potvrzené přenašečky patřily obě matky postižených psů, jedna jejich sestra ze stejného vrhu a jedna fena z mateřské linie jejich předků.

Oba otcové postižených psů byli geneticky negativní na sledovanou variantu. Naproti tomu u jednoho psa, společného předka všech postižených jedinců z matčiny strany, byla varianta zjištěna v hemizygotním stavu. Tato zjištění odpovídají recesivnímu způsobu dědičnosti vázanému na chromozom X.

Nebyla zjištěna žádná postižená fena homozygotní pro tuto variantu.

Genotypy dvou postižených psů a dvou rodičů, stejně jako genotypy psů z databáze Dog10k, byly získány sekvenováním celého genomu (WGS). Genotypy ostatních jedinců byly stanoveny Sangerovým sekvenováním.

Plemeno a zdravotní stav	Počet psů	wt/wt	wt/DEL	DEL
Anglický kokršpaněl – případy nové formy PRA	4	0	0	4
Anglický kokršpaněl – případy PRCD-PRA	5	5	0	0
Anglický kokršpaněl – zdraví jedinci	85	81	4	0
Anglický kokršpaněl – podezření na onemocnění*	1	0	0	1
Ostatní plemena (databáze Dog10k)	1 204	1 204	0	0
Celkem	1 299	1 290	4	5

Vysvětlivky:

- wt/wt – normální genotyp, bez sledované delece.
- wt/DEL – heterozygotní fena, přenašečka sledované delece.
- DEL – hemizygotní pes (samec) se sledovanou delecí na chromozomu X.
- WGS – sekvenování celého genomu (Whole-Genome Sequencing).

Poznámka:

Hvězdičkou je označen pes ECS95, u kterého majitel uváděl zhoršení zraku. Genetické vyšetření u něj prokázalo hemizygotní přítomnost sledované varianty. Tento nález odpovídá předpokládanému způsobu dědičnosti a podporuje podezření, že pes byl postižen zkoumaným onemocněním.

Diskuse

Kombinace analýzy rodokmenů, hodnocení klinických projevů, doplňkového testování dalších známých genetických variant způsobujících onemocnění, mapování oblastí homozygotnosti a sekvenování celého genomu umožnila identifikovat genetickou variantu v genu *CACNA1F* vázaném na chromozom X, která má předpokládaný závažný dopad na funkci bílkoviny.

Tato varianta je spojena s progresivní atrofií sítnice vázanou na chromozom X (XLPRA) u psů a je pravděpodobnou příčinou tohoto onemocnění.

Gen *CACNA1F* kóduje bílkovinu Cav1.4, která tvoří vápníkový kanál typu L. Tyto vápníkové kanály jsou exprimovány především v neuronech sítnice, konkrétně v nervových zakončeních fotoreceptorů [35].

Na těchto místech zajišťují trvalý přísun vápenatých iontů (Ca^{2+}), které jsou nezbytné pro uvolňování neurotransmiterů, tedy látek umožňujících přenos nervových signálů [35–37].

Genetické varianty v genu *CACNA1F* jsou u savců spojovány s různými onemocněními očí a sítnice.

U člověka jsou varianty tohoto genu spojeny se třemi odlišnými, avšak částečně se překrývajícími klinickými obrazy onemocnění, přičemž všechny zahrnují postižení sítnice (viz OMIM 300071, 300476 a 300600; databáze OMIM, přístup dne 8. září 2025).

Již v 90. letech 20. století byly identifikovány varianty genu *CACNA1F* spojené s neúplnou formou vrozené stacionární noční slepoty typu 2A (incomplete congenital stationary night blindness, CSNB2A) [38, 39].

Později byla popsána řada dalších variant tohoto genu, například ve studiích Boycotta a kol. (2001) a Nakamury a kol. (2003) [40, 41].

Jalkanen a kol. [42] rovněž zmapovali recesivní dystrofii čípků a tyčinek typu 3 vázanou na chromozom X (CORDX3).

Podobně bylo s genem *CACNA1F* spojeno také oční onemocnění známé jako Aland Island eye disease (oční onemocnění Ålandských ostrovů).

Toto onemocnění bylo poprvé popsáno v roce 1964 [43] jako forma retinitis pigmentosa (RP), dříve označovaná jako tapetoretinální degenerace. Mezi jeho klinické projevy patří snížená pigmentace očního pozadí, zhoršená zraková ostrost, nystagmus (mimovolní rytmické pohyby očí) a astigmatismus.

Byla u něj zjištěna souvislost s homozygotní delecí úseku DNA o délce 425 párů bází v genu *CACNA1F* [44].

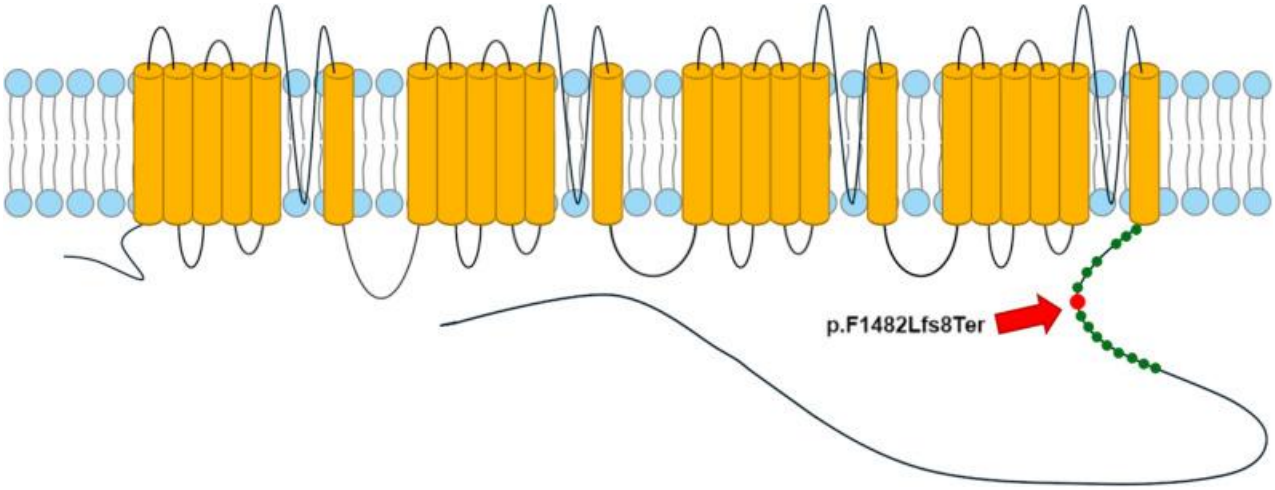
Pro výzkum funkce genu *CACNA1F* byly vytvořeny experimentální myší modely s vyřazenou funkcí tohoto genu (knockout). Současně byl identifikován také přirozeně se vyskytující model onemocnění u potkanů [37].

Nedávno byl podobný model identifikován také u psů plemene greyhound (anglický chrt). V době dokončení tohoto vědeckého článku však byly výsledky zveřejněny pouze formou abstraktu [45].

Přehled dosud známých genetických variant genu *CACNA1F* u savců je uveden v doplňkovém souboru S5.

Za pozornost stojí skutečnost, že mutace nacházející se uvnitř membránových úseků bílkoviny, v blízkosti varianty identifikované u anglických kokršpanělů v této studii, jsou spojovány s degenerací sítnice a krátkozrakostí (myopií) (obr. 4, doplňkový soubor S5).

Obrázek 4. Schematické znázornění lidské bílkoviny CACNA1F



Válce představují transmembránové domény, tedy části bílkoviny procházející buněčnou membránou.

V detailním zobrazení vpravo je větší červenou tečkou označena poloha genetické varianty identifikované v této studii, převedená na odpovídající pozici v lidské izoformě bílkoviny *CACNA1F*. Tato varianta se nachází v posledním transmembránovém úseku C-koncové části bílkoviny.

Menší zelené tečky označují nejbližší známé genetické varianty ve stejném úseku bílkoviny, které způsobují oční onemocnění.

Úplný seznam těchto variant je uveden v doplňkovém souboru S5, kde jsou nejbližší varianty zvýrazněny žlutě.

Schematické znázornění uspořádání bílkoviny vychází z publikace [46].

Identifikace nové genetické varianty v genu, o kterém je již známo, že u člověka způsobuje degeneraci sítnice, potvrzuje společný genetický základ těchto onemocnění u různých živočišných druhů.

Význam těchto zjištění však přesahuje rámec samotného vědeckého poznání a upozorňuje na zásadní otázky týkající se chovatelské praxe, veterinárních preventivních vyšetření a odpovědného využívání genetického testování u zájmových zvířat.

Genetické testy představují neocenitelný nástroj pro sledování známých genetických variant a snižování četnosti jejich výskytu v populaci. Negativní výsledek dostupných genetických testů však nezaručuje, že se u psa nemůže rozvinout jiné geneticky podmíněné onemocnění.

To je obzvláště důležité u onemocnění, která se projevují až v pozdějším věku, jako je například PRA.

U těchto onemocnění by proto genetické testování mělo být vždy doplněno pravidelnými veterinárními vyšetřeními, která umožňují včasné odhalení klinických příznaků, včasné přijetí potřebných opatření a poskytují důležité informace pro rozhodování o dalším chovatelském využití jedince.

Tuto složitost problematiky by měly zohledňovat také současné chovatelské předpisy.

Například v Itálii může pes po absolvování příslušných genetických a veterinárních vyšetření získat titul „Selected Breeder“ (vybraný chovný jedinec).

V současnosti však neexistuje povinnost pokračovat v pravidelných zdravotních vyšetřeních, aby si pes tento titul udržel.

To znamená, že pes, který získá toto chovatelské osvědčení v mladém věku, může později začít vykazovat příznaky PRA, katarakty nebo jiného dědičného onemocnění, a přesto si nadále ponechat své chovné oprávnění. Existuje tak riziko, že bude toto onemocnění předávat svým potomkům.

Chovatelé i veterinární lékaři by proto měli být aktivně motivováni k tomu, aby podezření na dědičná onemocnění hlásili výzkumným pracovníkům.

Včasné oznámení výskytu takového onemocnění může umožnit rychlé zahájení výzkumu jeho genetické příčiny a podpořit vývoj genetických testů, které pomohou zabránit dalšímu šíření onemocnění v rámci plemene, umožní stanovit vhodné chovatelské strategie a zjistit četnost výskytu příslušné genetické varianty.

Právě zjištění četnosti výskytu této varianty by mělo být pravděpodobně cílem dalších studií.

Současná studie byla totiž navržena především za účelem identifikace genetické varianty způsobující onemocnění, nikoliv ke stanovení její četnosti v populaci plemene.

Z jejích výsledků proto nelze vyvozovat závěry o tom, jak často se tato varianta v populaci anglických kokršpanělů vyskytuje ani jaké je její geografické rozšíření.

Všechny tyto skutečnosti v konečném důsledku zdůrazňují potřebu, aby národní kynologické organizace a chovatelské kluby zavedly systematický odběr a uchovávání biologických vzorků v biobankách přístupných výzkumným pracovníkům.

Taková infrastruktura by měla zásadní význam pro identifikaci genetických variant způsobujících nově se objevující dědičná onemocnění a zároveň by umožnila poskytovat chovatelům a majitelům psů kvalifikované genetické poradenství.

Závěry

Objev nové genetické varianty v genu *CACNA1F*, která je spojena s progresivní atrofií sítnice vázanou na chromozom X u anglických kokršpanělů a je pravděpodobně její příčinou, představuje významný příspěvek k poznání dědičných onemocnění sítnice.

Vzhledem k tomu, že úloha tohoto genu při vzniku podobných onemocnění již byla prokázána u několika druhů savců, včetně člověka, tento objev dále potvrzuje jeho význam v oblasti srovnávací oftalmologické genetiky.

Tyto výsledky jsou příkladem toho, jak významná může být mezioborová spolupráce chovatelů, veterinárních lékařů, genetiků a výzkumných institucí při rozšiřování našich znalostí o dědičných onemocněních.

Podrobné informace o jedincích postižených dědičnými onemocněními s dosud neznámou příčinou, společně s komplexními údaji o jejich příbuzných a odběrem biologických vzorků, mohou totiž výrazně urychlit identifikaci nových genetických variant.

Studie zároveň zdůrazňuje zásadní úlohu odpovědných chovatelů ve vědeckém výzkumu. Chovatelé by neměli být pouze těmi, kterých se výsledky výzkumu týkají, ale také aktivními účastníky, kteří přispívají k získávání nových vědeckých poznatků.

Taková spolupráce je nezbytná k tomu, aby se vědecký pokrok promítal do konkrétních přínosů pro zdraví a životní pohodu zvířat.

Jedním z těchto přínosů je například vývoj genetických testů umožňujících včasnou identifikaci pravděpodobně patogenních genetických variant, tedy variant, které mohou způsobovat onemocnění.

Současně tato spolupráce podporuje odpovědný, informovaný a dlouhodobě udržitelný chov, založený na vědeckých poznatcích.

Doplňující informace

Online verze článku obsahuje pět doplňkových souborů, které poskytují podrobnější informace o genetických analýzách, rodokmenech a vyšetřených psech.

- Soubor S1: Seznam veřejně dostupných genomických dat kontrolních jedinců, včetně identifikačních údajů BioProject, BioSample a Run ID. Soubor XLSX
- Soubor S2: Kompletní rodokmen vyšetřované italské populace anglických kokršpanělů. Čtverce označují psy, kruhy feny. Oranžově jsou vyznačeni geneticky testovaní jedinci, šedě psi, u nichž nebyla k dispozici genetická data. Přenašečky jsou označeny napůl vyplněnými symboly, jedinci bez

sledované varianty prázdnými symboly a hemizygotní psi symboly, které jsou napůl vyplněné a napůl diagonálně přeškrtnuté. Soubor PDF

- Soubor S3: Porovnání aminokyselinových sekvencí bílkoviny *CACNA1F* u normální varianty genu a varianty c.4,481del. Počáteční a stop kodony jsou označeny zeleně a červeně. Soubor DOCX
- Soubor S4: Přehled klinických projevů, pohlaví a výsledků genetického testování vyšetřených anglických kokršpanělů. Soubor XLSX
- Soubor S5: Seznam dosud známých variant genu *CACNA1F* u savců. Varianty znázorněné na obrázku 4 jsou zvýrazněny žlutě. Soubor XLSX

Poděkování

Zvláštní poděkování patří Angele Francini, viceprezidentce Italského kynologického svazu (ENCI) a dlouholeté chovatelce anglických kokršpanělů, která velkoryse poskytla své odborné zkušenosti a s velkým nasazením pomáhala při zapojování psů do studie a podporovala spolupráci mezi chovateli.

Upřímné poděkování patří také MVDr. Lauře Barachetti za vynikající koordinaci klinických oftalmologických vyšetření, která sehrála zásadní roli při stanovení diagnózy.

Autoři dále vyjadřují zvláštní poděkování Italskému kynologickému svazu (ENCI) za umožnění přístupu k biologickým vzorkům a spolupracujícím laboratořím Vetogene, LGS a Biogene za technickou podporu.

Podíl autorů na studii

Na koncepci studie se podíleli L. Liotta, L. Murgiano, P. Crepaldi a A. Bionda.

Jednotliví autoři se dále podíleli na metodice výzkumu, softwarovém zpracování, genetických analýzách, samotném výzkumu, správě získaných dat, přípravě odborného textu a jeho odborné revizi.

Odborný dohled nad studií zajišťovali L. Murgiano, L. Liotta a A. Bionda.

Financování

Studie byla finančně podpořena nadací Van Sloun Foundation, grantem amerického Národního očního institutu (NEI/NIH) č. R01-EY006855 a nadací Foundation Fighting Blindness v rámci programu zaměřeného na výzkum a využití velkých zvířecích modelů očních onemocnění (grant č. RC-CMM-0720-0792-UPA).

Autoři rovněž děkují Milánské univerzitě za podporu prostřednictvím programu APC, který přispívá na náklady spojené s publikováním vědeckých článků.

Dostupnost dat

Datové soubory vytvořené nebo analyzované během této studie jsou dostupné ve veřejném datovém úložišti Dryad:

10.5061/dryad.r7sqv9sqs

Prohlášení

Etické schválení a souhlas s účastí

U italských psů zařazených do studie nebylo vyžadováno schválení etickou komisí, protože údaje o jejich očním zdraví pocházely z dobrovolných vyšetření, která si majitelé a chovatelé nechali nezávisle provést.

Veškeré ostatní údaje pocházely z dříve uložených archivních vzorků.

Genetické analýzy byly provedeny s využitím biologických vzorků uložených u Italského kynologického svazu (ENCI) v souladu s technickými předpisy italské plemenné knihy.

Žádné zákroky nebyly prováděny výhradně pro účely výzkumu a autoři studie sami se psy přímo nemanipulovali ani jim neodebírali biologické vzorky.

Souhlas se zveřejněním

Nevztahuje se na tuto studii.

Střet zájmů

Autoři prohlašují, že nejsou ve střetu zájmů.

Poznámka vydavatele

Vydavatelství Springer Nature zaujímá neutrální postoj k otázkám územních nároků uváděných v publikovaných mapách a institucionálních příslušnostech.

Použitá literatura (References)

1. Miyadera K, Acland GM, Aguirre GD. Genetic and phenotypic variations of inherited retinal diseases in dogs: the power of within- and across-breed studies. Mamm Genome. 2012;23(1–2):40–61.
2. Winkler PA, Occelli LM, Petersen-Jones SM. Large animal models of inherited retinal degenerations: a review. Cells. 2020;9(4):882.
3. Aguirre G, Acland GM. Models, mutants and man: searching for unique phenotypes and genes in the dog model of inherited retinal degeneration. In: The Dog and Its Genome. Edited by Ostrander EA, Giger U, Lindblad-Toh K. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2006:291–325.
4. Parry HB. Degenerations of the dog retina. I. Structure and development of the retina of the normal dog. Br J Ophthalmol. 1953;37(7):385–404.
5. Bunel M, Chaudieu G, Hamel C, Lagoutte L, Manes G, Botherel N, Brabet P, Pilorge P, Andre C, Quignon P. Natural models for retinitis pigmentosa: progressive retinal atrophy in dog breeds. Hum Genet. 2019;138(5):441–53.
6. Sheet S, Krishnamoorthy S, Park W, Lim D, Park JE, Ko M, Choi BH. Mechanistic insight into the progressive retinal atrophy disease in dogs via pathway-based genome-wide association analysis. J Anim Sci Technol. 2020;62(6):765–76.
7. Goldstein O, Zangerl B, Pearce-Kelling S, Sidjanin DJ, Kijas JW, Felix J, Acland GM, Aguirre GD. Linkage disequilibrium mapping in domestic dog breeds narrows the progressive rod-cone degeneration interval and identifies ancestral disease-transmitting chromosome. Genomics. 2006;88(5):541–50.
8. Kijas JW, Cideciyan AV, Aleman TS, Pianta MJ, Pearce-Kelling SE, Miller BJ, Jacobson SG, Aguirre GD, Acland GM. Naturally occurring rhodopsin mutation in the dog causes retinal dysfunction and degeneration mimicking human dominant retinitis pigmentosa. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99(9):6328–33.
9. Zeiss CJ, Ray K, Acland GM, Aguirre GD. Mapping of X-linked progressive retinal atrophy (XLPRA), the canine homolog of retinitis pigmentosa 3 (RP3). Hum Mol Genet. 2000;9(4):531–7.
10. Kropatsch R, Akkad DA, Frank M, Rosenhagen C, Altmüller J, Nürnberg P, Epplen JT, Dekomien G. A large deletion in *RPGR* causes XLPRA in Weimaraner dogs. Canine Genet Epidemiol. 2016;3:7.

11. Zhang Q, Acland GM, Wu WX, Johnson JL, Pearce-Kelling S, Tulloch B, Vervoort R, Wright AF, Aguirre GD. Different *RPGR* exon ORF15 mutations in Canids provide insights into photoreceptor cell degeneration. Hum Mol Genet. 2002;11(9):993–1003.
12. Parshall CJ, Wyman M, Nitroy S, Acland G, Aguirre GD. Photoreceptor dysplasia: an inherited progressive retinal atrophy of miniature schnauzer dogs. Progress Veterinary Comp Ophthalmol. 1991;1(3):187–203.
13. Aguirre GD, Rubin LF. Progressive retinal atrophy (rod dysplasia) in the Norwegian Elkhound. J Am Vet Med Assoc. 1971;158(2):208–18.
14. Aguirre GD, Rubin LF. Rod-cone dysplasia (progressive retinal atrophy) in Irish setters. J Am Vet Med Assoc. 1975;166(2):157–64.
15. Aguirre GD, Acland GM. Variation in retinal degeneration phenotype inherited at the prcd locus. Exp Eye Res. 1988;46(5):663–87.
16. Beltran WA, Acland G, Aguirre GD. Age-dependent disease expression determines remodeling of the retinal mosaic in canine models of RP. Investig Ophthalmol Vis Sci. 2012;53:3989–4001.
17. Zangerl B, Goldstein O, Philp AR, Lindauer SJP, Pearce-Kelling SE, Mullins RF, Graphodatsky AS, Ripoll D, Felix JS, Stone EM, et al. Identical mutation in a novel retinal gene causes progressive rod–cone degeneration in dogs and retinitis pigmentosa in humans. Genomics. 2006;88(5):551–63.
18. Andrade LR, Caceres AM, Trecenti AS, Brandão CVS, Gandolfi MG, Aguiar EV. Allele frequency of the C.5G > a mutation in the *PRCD* gene responsible for progressive retinal atrophy in English Cocker Spaniel dogs. Animals. 2019;9(10):844.
19. Donner J, Freyer J, Davison S, Anderson H, Blades M, Honkanen L. Genetic prevalence and clinical relevance of canine Mendelian disease variants in over one million dogs. PLoS Genet. 2023;19:e10106511.
20. Dostal J, Hrdlicova A, Horak P. Progressive rod-cone degeneration (*PRCD*) in selected dog breeds and variability in its phenotypic expression. Veterinární medicína. 2011;56:243–7.
21. The Kennel Club. Health - DNA Test Report: DNA - prcd-PRA. Gundog - Spaniel (Cocker). 2024.
22. Ghilardi S, Bagardi M, Frattini S, Barbariga GE, Brambilla PG, Minozzi G. Genotypic and allelic frequencies of progressive rod-cone degeneration and other main variants associated with progressive retinal atrophy in Italian dogs. Veterinary Record Open. 2023;10:e77.
23. Downs LM, Hitti R, Pregnolato S, Mellersh CS. Genetic screening for PRA-associated mutations in multiple dog breeds shows that PRA is heterogeneous within and between breeds. Vet Ophthalmol. 2014;17:126–30.
24. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. Am J Hum Genet. 2007;81:559–75.
25. Murgiano L, Niggel JK, Benedicenti L, Cortellari M, Bionda A, Crepaldi P. Frameshift variant in AMPD2 in Cirneco dell'Etna dogs with retinopathy and tremors. Genes. 2024;15:238.
26. McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernytsky A. The genome analysis toolkit: a mapreduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. Genome Res. 2010;20:1297–303.
27. Cingolani P, Platts A, Wang le L, Coon M, Nguyen T, Wang L, Land SJ, Lu X, Ruden DM. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of Drosophila melanogaster strain w1118; iso-2; iso-3. Fly (Austin). 2012;6(2):80–92.
28. Ostrander EA, Wang GD, Larson G, vonHoldt BM, Davis BW, Jagannathan V. Dog10K: an international sequencing effort to advance studies of canine domestication, phenotypes and health. Natl Sci Rev. 2019;6:810–24.
29. Rausch T, Zichner T, Schlattl A, Stutz AM, Benes V, Korbel JO. DELLY: structural variant discovery by integrated paired-end and split-read analysis. Bioinformatics. 2012;28(18):i333–9.
30. Meadows J, Kidd J, Wang G, Parker H, Schall P, Bianchi M, Christmas M, Bougiouri K, Buckley R, Hitte C, et al. Genome sequencing of 2000 canids by the Dog10K consortium advances the understanding of demography, genome function and architecture. Genome Biol. 2023;24(4):187.
31. Wang C, Wallerman O, Arendt M, Sundström E, Karlsson Å, Nordin J, Mäkeläinen S, Pielberg G, Hanson J, Ohlsson Å, et al. A novel canine reference genome resolves genomic architecture and uncovers transcript complexity. Commun Biol. 2021;4(1):185.
32. Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M, Rozen SG. Primer3—new capabilities and interfaces. Nucleic Acids Res. 2012;40(15):e115.
33. Beltran WA, Wen R, Acland GM, Aguirre GD. Intravitreal injection of ciliary neurotrophic factor (CNTF) causes peripheral remodeling and does not prevent photoreceptor loss in canine *RPGR* mutant retina. Exp Eye Res. 2007;84(4):753–71.
34. Beltran WA, Hammond P, Acland GM, Aguirre GD. A frameshift mutation in *RPGR* exon ORF15 causes photoreceptor degeneration and inner retina remodeling in a model of X-linked retinitis pigmentosa. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006;47(4):1669–81.
35. Koschak A, Fernandez-Quintero ML, Heigl T, Ruzza M, Seitter H, Zanetti L. Cav1.4 dysfunction and congenital stationary night blindness type 2. Pflugers Arch. 2021;473(9):1437–54.
36. Koschak A, Reimer D, Walter D, Hoda JC, Heinzle T, Grabner M, Striessnig J. Cav1.4alpha1 subunits can form slowly inactivating dihydropyridine-sensitive L-type Ca2+ channels lacking Ca2+-dependent inactivation. J Neurosci. 2003;23(14):6041–9.

37. Duemler A, Gao H, Powell J, Iannaccone A, Alekseev O. Åland Island eye disease in two patients harboring novel *CACNA1F* variants. Ophthalmic Genet. 2025;46(5):495–8.

38. Strom TM, Nyakatura G, Apfelstedt-Sylla E, Hellebrand H, Lorenz B, Weber BH, Wutz K, Gutwillinger N, Rüther K, Drescher B, et al. An L-type calcium-channel gene mutated in incomplete X-linked congenital stationary night blindness. Nat Genet. 1998;3:260–3.

39. Bech-Hansen NT, Naylor MJ, Maybaum TA, Pearce WG, Koop B, Fishman GA. Loss-of-function mutations in a calcium-channel alpha1-subunit gene in Xp11.23 cause incomplete X-linked congenital stationary night blindness. Nat Genet. 1998;19:264–7.

40. Boycott KM, Maybaum TA, Naylor MJ, Weleber RG, Robitaille J, Miyake Y. A summary of 20 *CACNA1F* mutations identified in 36 families with incomplete X-linked congenital stationary night blindness, and characterization of splice variants. Hum Genet. 2001;108:91–7.

41. Nakamura M, Ito S, Piao CH, Terasaki H, Miyake Y. Retinal and optic disc atrophy associated with a *CACNA1F* mutation in a Japanese family. Arch Ophthalmol. 2003;121(7):1028–33.

42. Jalkanen R, Mänlyjärvi M, Tobias R, Isosomppi J, Sankila EM, Alitalo T. X linked cone-rod dystrophy, CORDX3, is caused by a mutation in the *CACNA1F* gene. J Med Genet. 2006;43:699–704.

43. Forsius H, Eriksson AW. Ein neues Augensyndrom mit X-chromosomaler Transmission: eine Sippe mit Fundusalbinismus, Foveahypoplasie, Nystagmus, Myopie, Astigmatismus und Dyschromatopsie. Klin Monatsbl Augenheilkd. 1964;447–57.

44. Jalkanen R, Bech-Hansen NT, Tobias R, Sankila EM, Mäntyjärvi M, Forsius H, et al. A novel *CACNA1F* gene mutation causes Aland Island eye disease. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2007;48(6):2498–502.

45. Nlebedum U, Thomasy S, Casanova I, Vo J, Young LJ, Leonard B. A *CACNA1F* deletion causes X-linked progressive retinal atrophy in racing Greyhounds. Investig Ophthalmol Vis Sci. 2024;65:5276.

46. McRory JE, Hamid J, Doering CJ, Garcia E, Parker R, Hamming K, Chen L, Hildebrand M, Beedle AM, Feldcamp L, et al. The *CACNA1F* Gene Encodes an L-Type Calcium Channel with Unique Biophysical Properties and Tissue Distribution. J Neurosci. 2004;24(7):1707–18.