

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra obecné zootechniky a etologie



Vztah mezi zbarvením a genetickými chorobami u koní

Bakalářská práce

Autor práce: Petra Zelinková

Vedoucí práce: Ing. Barbora Hofmanová, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vztah mezi zbarvením a genetickými chorobami u koní" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 18.4.2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Barboře Hofmanové, Ph.D. za trpělivost a cenné rady poskytnuté při vypracování bakalářské práce a také své rodině za podporu a pevné nervy po celou dobu mého studia.

Souhrn

Výsledné zbarvení srsti je dáno typem pigmentu a jeho následnou distribucí na těle zvířete. Zbarvení často řídí pleiotropní geny, které sebou spolu s barvou srsti přinášejí také další vlastnosti či znaky.

V současné době byly identifikovány geny MC1R, ASIP, SLC45A2, SILV, SLC36A1, MYO5A, KIT, EDNRB, STX17 a TRPM1. Všechny tyto geny mají souvislosti se zbarvením, podílí se na jeho vzniku i na jeho výsledné podobě.

Práce je psána jako literární rešerše, která řeší zbarvení spojovaná s výskytem určitých chorob v důsledku pleiotropního působení genů. Mezi nejdůležitější patří tyto mutace: Letální syndrom bílých hříbat (Lethal white foal syndrome (LWFS)) objevující se u koní zbarvených barvou overo, Levandulový syndrom hříbat (Lavender foal syndrome) u hříbat, která se rodí se zředěnou barvou srsti podobnou barvě cínu nebo levandule, Vrozená stacionární noční slepota u koní appaloosa (Congenital stationary night blindness (CSNB)), Mnohonásobné kongenitální oční anomálie (Multiple congenital ocular anomaly (MCOA)) spojovaný s koňmi se stříbrnou barvou srsti a Melanom vyskytující se u vybělujících běloušů.

Všechny tyto mutace jsou spojeny s geny, které se podílí na barvě srsti koně. Získané informace pochází především z konkrétních studií provedených na postižených jedincích.

Klíčová slova: Kůň, pigmentace, geneticky podmíněná onemocnění, barva, pleiotropie, mutace

Summary

The resulting coat color is determined by the type of pigment and its next distribution to the body of animal. Coloration is often governed by pleiotropic genes with each other together with coat bring other qualities or characteristics.

Currently identified genes MC1R, ASIP, SLC45A2, SILV, SLC36A1, MYO5A KIT, EDNRB, STX17 TRPM1. All these genes are related to coloration in its formation and to its final form.

The work is written as a literature review, that addresses color associated with the occurrence of certain diseases due to the action pleiotropic genes. In this work are described in detail this mutations: lethal syndrome White foals (Lethal white foal syndrome (LWFS)) appearing in horses colored overo verify Lavender syndrome foals (lavender foal syndrome) in foals, which is born with similar coat color of lavender tone offense, congenital stationary night blindness in horses appaloosa (congenital stationary night blindness (CSNB)), Multiple congenital ocular anomalies (Multiple congenital anomalies of the eye (MCOA)) associated with horses with silver hair color and melanoma occurring in the Gray roan.

All these mutations are associated with genes that are involved in horse coat color. The obtained information comes mainly from specific studies in affected individuals.

Keywords: Horse, pigmentation, genetically determined illness, color, pleiotropy, mutation

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Cíl práce.....	9
3	Literární rešerše	10
3.1	Pigmentové buňky.....	10
3.2	Barva srsti	10
3.2.1	Zbarvení divoce žijících živočichů	11
3.3	Zbarvení srsti u koní	12
3.3.1	Vývoj barvy srsti.....	12
3.4	Charakteristika základních zbarvení koní	13
3.4.1	Pigmentace	13
3.4.2	Základní barvy	13
3.4.2.1	Ryzák	13
3.4.2.2	Hnědák	14
3.4.2.3	Vraník	14
3.4.3	Ředění pigmentace	15
3.4.3.1	Dun	15
3.4.3.2	Cream	16
3.4.3.3	Silver.....	16
3.4.3.4	Champagne	17
3.4.4	Strakatost.....	18
3.4.4.1	Sabino.....	18
3.4.4.2	Tobiano.....	18
3.4.4.3	Overo.....	18
3.4.4.4	Leopard complex.....	19
3.4.5	Ostatní.....	19
3.4.5.1	Dominant white.....	19
3.4.5.2	Grey.....	20
3.4.5.3	Roan	21
3.4.6	Přehled barev a jejich lokusů	21
3.5	Onemocnění způsobovaná pleiotropií genů	22
3.5.1	Pleiotropie.....	22
3.5.2	Letální syndrom bílých hříbat – Lethal white foal syndrome (LWFS).....	22
3.5.2.1	Hluchota	25

3.5.3	Levandulový syndrom hříbat – Lavender foal syndrome (Coat color dilution lethal (CCDL))	26
3.5.4	Vrozená stacionární noční slepota u koní appaloosa - Congenital stationary night blindness (CSNB)	28
3.5.5	Mnohonásobné kongenitální oční anomálie - Multiple congenital ocular anomaly (MCOA) syndrome in horses.....	30
3.5.6	Melanom.....	33
4	Závěr	36
5	Zdroje.....	37

1 Úvod

Koně nám již dlouhou dobu obohacují život. Zprvu byli našimi pomocníky například při dopravě či při získávání dřeva. Stejně jako u jiných chovaných zvířat i u koní si všímáme zbarvení a vzorů srsti a obdivujeme jejich různorodost. I přes veškerou péči, kterou jim poskytujeme, se občas objeví onemocnění, porucha či dokonce úhyn, které nejsme schopni ovlivnit.

Tyto zprvu vypadající náhlé problémy jsou způsobeny a ukotveny až v samé podstatě koně. V jeho genech. Ty kromě krásné barvy srsti, hřívy či očí mohou způsobit také komplikace vedoucí k určitým náchylnostem vůči nemocem nebo k jiným závažným poruchám, protože mutace zahrnující pigmentaci vedou velmi často ke škodlivým účinkům v jiných částech organismu koně. Za příklad je možno uvést neurologické vady, vady sluchu, poruchy zraku a očí aj.

Geny zodpovědné za pigmentaci byly jedny z prvních studovaných genů, a to zejména z důvodu jejich jednoduché identifikace. Za pigmentaci jsou u koní zodpovědné tzv. geny velkého účinku. Bylo zjištěno, že barva srsti může být nezbytná pro přežití či může přinést určitou výhodu. Například bílý kůň je při určitých podmínkách vnějšího prostředí méně atraktivní pro hmyz čeledi *Ovádovití*.

2 Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je najít souvislosti mezi zbarvením srsti u koní a některými nemocemi na základě literární rešerše. Podle takto získaných poznatků určit pleiotropní vlivy některých genů ovlivňujících nejen zbarvení.

3 Literární rešerše

3.1 Pigmentové buňky

Melanocyty někdy také nazývané pigmentové buňky jsou odvozeny z embryonálních (zárodečných) buněk tzv. zárodečného listu strunatců (neuroektoderm). Tyto buňky jsou roztroušené ve svrchní vrstvě pokožky a jejich významnou funkcí je produkce pigmentu. Kromě kůže se melanocyty vyskytují také ve vlasech a v některých vrstvách oka.

Z již zmíněného neuroektodermu vznikají také buňky kostí a chrupavek, tukové buňky či některé typy neuronů. A právě kvůli společnému základu těchto buněk tedy není až tak velkým překvapením, že mutace v genu, který zajišťuje vznik melanocytů (pigmentových buněk), může také vést k poruše zraku, sluchu či k určitým neurologickým odlišnostem. Díky šlechtění a domestikaci je udržováno spousta mutací, které vyvolávají vysokou variabilitu barev a zajímavých vzorů srsti. Většina nemocí, které by mohly vykazovat souvislosti s pigmentací, je však zatím předmětem výzkumu (Bellone, 2010c).

3.2 Barva srsti

Podle Castle (1954) jsou barvy srsti savců obecně odvozeny z přítomnosti dvou různých skupin pigmentů přítomných v plášti. Tyto skupiny můžeme obecně nazývat černohnědá (black - brown) a červenožlutá (red - yellow). Obě základní skupiny pigmentů jsou koncovými produkty látek schopných produkovat barvu při jejich oxidačních reakcích. V prvním kroku tohoto procesu může dojít k mutaci, která pak může mít za následek úplnou nebo částečnou nefunkčnost genu zodpovědného za barvu srsti.

Následkem této situace je **albinismus**. Albinismus, jak ho zkoumal Castel (1954), byl podle něj rozdělen na tři základní formy:

- a) Při kompletní nefunkčnosti vznikají savci s bílou barvou srsti (vlasů) a s růžovou barvou kůže a očí. Nejvíce zkoumanými albíny jsou především hlodavci (potkani, myši) a také králíci. Bílá myš s potvrzeným albinismem byla vůbec historicky prvním takovým nalezeným živočichem, tedy živočichem s mutací způsobující albinismus.
- b) Pokud nastane druhá situace, dojde k částečné nefunkčnosti a tím dojde k neúplné ztrátě pigmentu. Příkladem může být například druh himalájského králíka. Jeho oči jsou růžové. Kůže je růžová a srst bílá s výjimkou končetin. Na uších, nosu, ocasu a nohách je srst slabě pigmentovaná.

- c) Existuje ještě třetí typ albino mutace. Stejně jako předešlé dva typy je popsán u králíků. Vyskytuje se u tzv. činčila králíků. Gen, zodpovědný za tuto mutaci je označován jako CCH. Umožňuje pigmentu rozvíjet se po celém těle živočicha, avšak ve velmi omezeném množství.

Dnes je však albinismus podrobován dalším studiím, a tak některé domněnky Castela z roku 1954 již nejsou aktuální.

Albinismus je způsoben nedostatkem melaninu. Jeho nedostatek v kůži, vlasech a v očích je označován jako OCA. Dalším typem je nedostatek barviva (melaninu) především v oku, tak vzniká tzv. oční albinismus (OA). Tato porucha vyplývá z mutací v genech účastnících se biosyntézy melaninu. Nedostatek melaninu v pigmentu může vést také k abnormálnímu směřování očních nervů. Následkem může být snížená ostrost vidění, která bývá společná u všech typů albinismu. Za různé typy očního albinismu jsou zodpovědné různé mutace v šesti genech (Oetting a King, 1999)

Albinismem se později zabýval také Protas et al. (2006), který přišel na spojení mezi albinismem a OCA2, což je gen spojený s pigmentací. Zkoumal albinismus u rybiček (teter) žijících v jeskyních. Různé delece v každé populaci zkoumaných jedinců zapříčinily úplnou ztrátu pigmentace z důvodu ztráty funkce určitého proteinu.

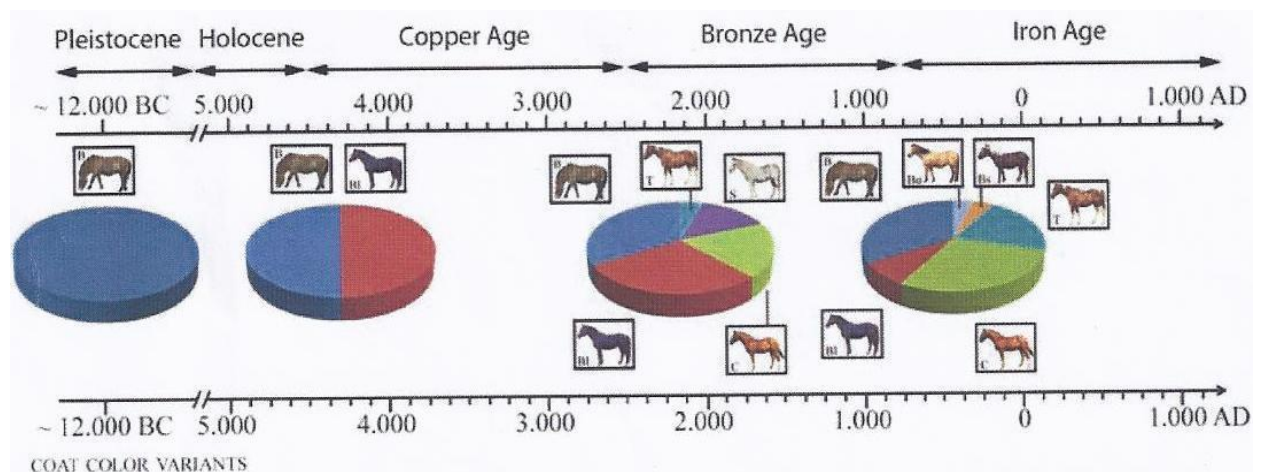
3.2.1 Zbarvení divoce žijících živočichů

Srst většiny savců žijících ve volné přírodě je převážně zbarvená barvou agouti. Tento jev je způsoben působením různých genů, které omezují distribuci černé barvy v jednotlivých oblastech těla. Pokud v rámci působení takového genu dojde k omezení černého zbarvení, je automaticky nahrazen barvou ze skupiny červenožlutých pigmentů. V důsledku tohoto jevu dochází k jakési mozaice z černých a žlutých pigmentů. Tato mozaika je velmi hodnotná v boji o přežití, kdy pomáhá oběti uniknout predátorovi, a naopak predátor je tak schopen přiblížit se své oběti (Castle, 1954).

3.3 Zbarvení srsti u koní

3.3.1 Vývoj barvy srsti

Koně měli v minulosti velký dopad především na válčení a dopravu. Právě jejich vysoký význam v minulosti přispěl k poměrně rychlé domestikaci a tím také k rychlým změnám zbarvení srsti. Koně žijící v různých částech kontinentů a v různých klimatických podmínkách měli zbarvení odlišné. Objevovala se nová a nová zbarvení. Některá zanikala, jiná se udržela. Vývoj barvy srsti koně je přiblížen v následném schématu (Ludwig et al, 2009).



Obrázek 1 Zbarvení koně v průběhu domestikace (zdroj: Ludwig et al., 2009)

Barvami koní se již dlouho zabývají nejen majitelé a chovatelé, ale také vědci. Podle Castle (1954) se nejvíce informací dá získat z plemenných knih. Nově vzniklé barvy byly udržovány také díky výraznému vývoji v odvětví genetiky, v níž bylo dosaženo výrazných pokroků na počátku 20. století. V některých z prvních studií byla také potvrzena existence genů původních divokých koní. Tyto geny jsou dochované v nezměněné podobě v genotypu některých dnes chovaných koní. Většina poznatků o zbarvení srsti koní je kupodivu získávána z pokusů na jiných savcích a hlodavcích. Teprve díky ostatním pokusným živočichům byly odvozeny přesnější poznatky o barvě, a především o její dědičnosti.

3.4 Charakteristika základních zbarvení koní

V následující kapitole budou charakterizovány nejdůležitější zbarvení u koní. U některých barev ze skupin ředění pigmentace a strakatost je česká nomenklatura nedostatečná a zcela nerozlišuje některé typy pigmentace, proto jsou zde používány názvy v anglickém jazyce.

3.4.1 Pigmentace

Viditelná pigmentace u savců je výsledkem syntézy a distribuce melaninu v kůži, chlupových kořincích, srsti a v očích. Tyto melaniny jsou vyráběny v melanocytech a rozlišujeme dva základní typy: eumelanin, který je hnědý nebo černý, a phaeomelanin, který je červený nebo žlutý. U savců obvykle existují směsi těchto dvou typů. Nejdůležitější enzym v biosyntetické dráze melaninu je tyrosináza. Tento enzym je nejvýznamnější pro syntézu melaninu (Hearing a Tsukamoto, 1991).

3.4.2 Základní barvy

3.4.2.1 Ryzák

Koně zbarvení rezavou barvou jsou recesivní homozygoti lokusu Extension. Gen MC1R má tedy obě alely recesivní: ee. Ryzáci mají červenou srst, která může být různých odstínů, ale také intenzity. Na rozdíl od hnědáků mají ryzáci distální část končetin, hubu, hřívu i ocas stejně zbarvené jako zbytek těla nebo i tmavší, avšak nikdy ne černé. Ryzáci mohou být tmavší i světlejší, nikdy se však jejich barva nedostane do odstínu černé nebo naopak do žlutého, tedy příliš světlého odstínu. Ryzáky můžeme dále rozlišovat, a to sice podle zmíněné intenzity barvy srsti na světlého ryzáka, tmavého ryzáka, černého ryzáka a ryzáka (Sponenberg, 2003).

Pomocí metody PCR Marklund et al (1996) prozkoumali gen MC1R. Bylo pozorováno 144 koní 12 různých plemen, z nichž někteří byli ryzáci a jejich vzorky byly následně porovnávány se vzorky od koní odlišné barvy. Sekvenční analýza odhalila jedinou mutaci, a to sice 83Ser → Phe. Tato substituce je spojena s pláštěm barevných variant také u myši a skotu. V této části molekuly se také nacházejí spojitosti se světlou kůží a rezavými vlasy u lidí.

Výzkumem základních barev srsti, tedy i zbarvením ryzák, se zabývali také vědci ve Švýcarsku. Například Henner et al. (2002) zkoumali vzorek DNA získaný od 162 koní ze Švýcarska. Odhalili vysoký výskyt ryzé barvy. Díky statistické analýze DNA 1369 potomků po 5 hřebcích bylo zjištěno, že tmavší odstíny základních barevných fenotypů jsou založené pomocí recesivní dědičnosti a jsou tedy méně časté.

3.4.2.2 Hnědák

Pod pojmem hnědák se rozumí kůň, u něhož se černá pigmentace soustředí pouze na omezené oblasti. Jak již bylo řečeno v předchozím odstavci, jedná se o oblast hřívky, ocasu, huby a distální části končetin. Zbytek těla je zbarven do hněda, a to opět do hnědého odstínu různé intenzity. Ke vzniku zbarvení hnědák je zapotřebí přítomnost alespoň jedné dominantní alely z lokusu Extension (gen MC1R) a zároveň dominantní alela lokusu Agouti (gen ASIP) (Sponenberg, 2003).

Hnědou barvu společně s dalšími zkoumal také Rieder (2001). V jeho studii analyzoval geny 40 koní a jejich mutace u celkem 120 koní 22 různých plemen s 11 různými barvami. Geny podílející se na barvě kůže mohou být rozděleny do dvou skupin: ty, které působí na vývoj, diferenciaci, migraci a ty, které působí přímo na syntézu pigmentu. Gen MC1R a jeho antagonist a ASIP kontrolují relativní množství pigmentu u savců.

V této studii je kompletní sekvence a struktura koní s MC1R a ASIP. Důkazy o recesivní černé barvě zde ukazují, že černí koně jsou homozygotní delecí v agouti lokusu. Dále se zde snaží odhalit mutace v MC1R, ASIP a TYRP1 lokusu a probrat tak mutace rezavých, tmavě hnědých, žlutých a dalších fenotypů. Používají k tomu DNA již zmíněných 120 koní.

3.4.2.3 Vraník

Za černé zbarvení je u koní zodpovědný především Extension lokus (E), u něhož má přítomnost alespoň jedné dominantní alely v genotypu (EE, Ee) za následek tvorbu pigmentu černé barvy (eumelaninu). Naopak jeho recesivní sestava (ee) je zodpovědná za tvorbu červeně zbarveného pigmentu (phaeomelaninu) tedy barvy koně, která je známá jako ryzák, jak již bylo výše zmíněno.

Černé zbarvení ovlivňuje také lokus Agouti (A). Ten neovlivňuje černý pigment jako takový, ale má vliv na jeho rozmístění a distribuci na těle koně. Alespoň jedna dominantní alela v genotypu (AA, Aa) vyskytující se v kombinaci s genotypy obsahujícími alespoň jednu dominantní alelu Extension lokusu (EE, Ee), má za následek omezení černé pigmentace.

Černá barva je pak v oblasti ocasu a hřívky, huby a na oblast distálních částí končetin (viz. hnědák). V recesivní sestavě (aa) dochází k rozptýlení vrané barvy na celé tělo. Vznikne vraník.

Vraníci jsou jedinci, jejichž tělo je celé černě zbarvené. Vrané (černé) zbarvení se v tomto případě netýká pouze srsti, ale také kůže. Je známým jevem, že někteří vraníci v létě nepatrně zhnědnou (konce srsti jsou hnědé). V zimě takové zesvětlení opět zmizí (Sponenberg, 2003).

Castle (1954) se domníval, že u černého zbarvení existuje druh dominant black (dominantní černé zbarvení). Křížení dominantního a recesivního černě zbarveného koně pak může mít za následek nečekaný výsledek, a to sice hříbě zbarvené tmavě či světle hnědou barvou. Může se jednat o zvrát dominance, avšak alela E^D (zodpovědná za zvýšenou produkci černého pigmentu) ve skutečnosti vždy ukrývá určitý vzorek zbarvení agouti.

Důkaz zatím neexistuje, ale mohlo by to být logické vysvětlení ke zvyšujícímu se nedostatku černě zbarvených poníků plemene Shetland.

Také černé zbarvení je zkoumáno ve studii Riedera (2001), kde ze 120 koní pouze 24 koní 9 různých plemen bylo nositeli vraného fenotypu, což znamená, že jejich rodiče nesli v genech všechny základní barvy (černá, plavák, ryzák).

3.4.3 Ředění pigmentace

3.4.3.1 Dun

Dle Imsland et al (2016) je dun typ divokého zbarvení. Vyznačuje se „ředěním“ pigmentu na větší části těla koně, takže na těle je oblast se světlejší srstí a oblasti výrazně tmavší.

Za zbarvení dun je zodpovědná exprese genu *TBX3*, která způsobuje radiální asymetrické ukládání pigmentu v rostoucí srsti.

Lokus Dun ředí jak eumelanin, tak i phaeomelanin. Dominantní alela v lokusu dun (D) ředí barvu těla, avšak vynechává hlavu, která je tmavší než tělo (Thiruvankadan et al., 2008). Kromě ředění pigmentu gen produkuje primitivní znaky (úhoří pruh, pruhy na nohou) (Van Vleck a Davitt, 1977). Primitivní znaky jsou pravděpodobně součástí lokusu, protože se jen minimálně vyskytují u koní bez přítomnosti D alely. Hřbetní (úhoří) pruh a pruhy na nohou jsou primitivními znaky, které mají úzkou spojitost s lokusem D (Stachurska, 1999).

Dun zbarvení bylo zkoumáno také u plemene polský koník. Jedná se o primitivní plemeno, které se nejspíše vyvinulo přímo z divokého lesního tarpana.

Plemenná kniha je uzavřená a jsou do ní zapisováni pouze jedinci barvy modrá dun s dobře vyvinutým úhořím pruhem. U 963 koní proběhlo zkoumání v oblasti genu TBX3. Bylo potvrzeno, že je zodpovědný za šedohnědé (modré) „ředění“ srsti (Stefaniuk-Szmukier et al, 2017).

3.4.3.2 Cream

Za zesvětlenou pigmentaci je zodpovědný lokus Cream (alela Cr). Tato alela má za následek tzv. zředění barvy. Nejen srst, ale i kůže v takovém případě obsahují málo pigmentu. Alela Cream patří do skupiny neúplně dominantních alel. Tento pojem znamená, že přítomnost jedné alely Cr nám barvu zředí pouze z části. V případě, kdy máme přítomné obě alely CrCr, dojde k výraznému pigmentu v srsti, pokud alela není přítomna má kůň základní zbarvení (Sponnenberg, 1996).

Cream tedy není barva jako taková. Tímto pojmem označujeme koně, jehož srst byla zesvětlena.

Studiem barvy cream se zabývali také Mariat et al. (2003). Ve své studii měli zastoupeny všechny genotypy očekávané u barvy cream (buckskin, hnědák, palomino, ryzák..). Zkoumali gen MATP, který je za toto zbarvení zodpovědný.

Pomocí vzorků kůže a tkáně a jejich následných studií odhalili nahrazení kodónu v poloze 72 u SNP8. Zde byl u ryzého koně přítomný GAT kodon, zatímco u koně cream byl nahrazen AAT.

V konkrétním případě to tedy znamená, že pokud je u ryzáka přítomna jedna alela Cr stane se z něj Palomino (žluťák) a za přítomnosti obou alel CrCr bude tento kůň zbarven do barvy Cremello.

Podobné zesvětlení proběhne i u dalších základních barev. Hnědák se s přítomností jedné alely Cr změní na Buckskina, s přítomností obou alel CrCr pak na Perlina. Vraník s jednou alelou Cr se označuje jako Smoky, se dvěma CrCr pak jako smoky cream (Sponnenberg, 2003).

3.4.3.3 Silver

Zbarvení nazývané jako silver vzniklo zředěním základní barvy. Zbarvení silver u koní může být těžko rozpoznatelné. U některých jedinců se projevuje jako grošování, ale ne u všech. Výrazné ředění je viditelné především v žíních, kde se objevuje ředění černého pigmentu a také se projevuje bílými řasami. Vzniká mutací v genu PMEL17.

Nevyskytuje se jen u koní ale i u jiných zvířat. Například u psů je toto zbarvení známé jako merle (Sponenberg, 2003).

Charakteristickým rysem pro „stříbrné“ koně také bývá fakt, že se rodí s pruhovanými kopyty. Tyto pruhy obvykle vymizí přibližně po jednom roce. Silver je u některých plemen koní velmi žádaná barva, avšak není příliš častá. Nejběžnější je v islandské populaci koní amerického miniaturního koně a také u Rocky mountain horse. Zbarvení se objevuje také u plemen American paint horse, Quarter horse, shetlandský pony a u jiných (Brunberg, 2006).

Stříbrná (silver) barva je také dávána do spojitosti s temperamentem koně. Probíhají studie na souvislosti mezi touto barvou a temperamentem koně. Bylo prokázáno, že mutace genu PMEL17 u koní způsobuje nepředvídatelnost jeho chování. Uvádí se, že koně s touto barvou bývají nervóznější a hůře zvladatelní. Také velmi špatně reagují na nové neznámé situace, protože jsou daleko opatrnější. Stejně jako s temperamentem se mutace spojuje také s vrozenými očními anomáliemi (MCOA) (Brunberg, 2006).

3.4.3.4 Champagne

Kůň barvy champagne se narodí s růžovou kůží. Jeho kůže však postupem času tmavne až do šedé, šedohnědé, plavé, zlaté nebo do jiných podobných odstínů. Stejně jako srst, tmavnou těmto koním také oči. Po narození mají hříbata oči nejčastěji modré. Tím, jak stárnou, oči tmavnou, a nakonec může být duhovka zbarvená i do hněda (Sponenberg, 2003).

Cook et al. (2008) udává, že zbarvení champagne je řízeno jednou autosomálně dominantní alelou (CH). Fenotyp je oceňován mnoha chovateli, ale může být obtížně odlišitelný od ředění barvy nazývaného cream. Alela CH byla u koní objevena na chromozomu 14. V rámci regionu byly identifikovány čtyři kandidátní geny. Jeden z nich nebyl promítán do kožní tkáně, proto se od jeho dalšího zkoumání upustilo. Další tři geny byly zkoumány jak u homozygotů champagne, tak u homozygotů bez tohoto ředění. Gen SLC36A1 měl u koní s fenotypem champagne přítomnou v exonu 2 nukleotidovou substituci aminokyseliny threonin na aminokyselinu arginin (T63A). Jedná se o první popis fenotypu spojeného s genem SLC36A1.

3.4.4 Strakatost

3.4.4.1 Sabino

Podle Sponenberga (2003) se jedná o černého, ryzého nebo hnědého koně, u něhož se vyskytují bílé skvrny. Přechody mezi barevnou a bílou částí jsou nevýrazné, zubaté, se vzájemným překrýváním. Nohy bývají nejčastěji bílé a stejně tak i kopyta. Oči mívají modrou až modrošedou barvu.

Brooks a Bailey (2005) uvádí, že nejčastěji jsou bílé skvrny přítomné na hlavě, dolních končetinách nebo bříše a dále se objevují roztroušené bílé chlupy na bránici. Původ fenotypu sabino je zakořeněn v genu KIT. Byly zkoumány vzorky od různých typů sabino koní. Zbarvení sabino je způsobeno substitucí pro T s A intronu 16.

3.4.4.2 Overo

Jedná se o černého, ryzého nebo hnědého koně s bílými fleky. Na rozdíl od tobiana (viz. další kapitola) jsou však pro toto zbarvení typické bílé fleky na bříše, kdy tyto fleky nikdy nepřesahují oblast hřbetu koně. Zbarvení overo dělíme na tři fenotypy. Patří sem splashed overo, frame overo a sabino, který již byl popsán (Sponenberg, 2003). Tato kapitola bude věnována zbarvení frame overo.

Frame overo je nejčastěji se vyskytujícím fenotypem nejen zbarvení overo, ale celkově nejčastějším typem strakatosti. Jak již bylo řečeno, bílé fleky nikdy nepřesahují hřbet koně. Orámování a přechod barev je výrazný, avšak okraje jsou zubaté. Kopyta jsou bílá, ale na rozdíl od sabina a tobiana, končetiny nejsou všechny bílé. Vždy je minimálně jedna z nich tmavě zbarvená (Sponenberg, 2003). Zbarvení je zde uvedeno především z důvodu jeho spojitosti s LWFS onemocněním.

3.4.4.3 Tobiano

Barva tobiano se vyznačuje bílými skvrnami, které jdou přes hřbet koně. Jinak může být kůň hnědý, černý nebo ryzák. Přechody mezi bílou a hnědou nebo černou barvou bývají velmi výrazné a zřetelné. Končetiny jsou zpravidla bílé a stejně tak kopyta. Ocas je naproti tomu barevný, oči jsou pigmentované (tmavé). Pro vytvoření tohoto zbarvení stačí přítomnost dominantního genu u jednoho z rodičů hříběte (Sponenberg, 2003).

Takže koně heterozygotní jsou fenotypově nerozeznatelní od homozygotů alely tobiano (K). Tobiano je zbarvení velmi žádané u mnoho chovatelů i majitelů koní (Haase, et al. 2008).

Zbarvení tobiano je nápadně podobné zbarvení overo, ale narozdíl od overo koní zde nehrozí mutace způsobující LWFS.

3.4.4.4 Leopard complex

U tohoto zbarvení mají koně menší flíčky základní barvy. Jsou flekatí v okolí huby, pohlavních orgánů a konečníku. Hříbata se již skvrnitá narodí, ale skvrnitost může s věkem ještě stoupnout (Sponenberg, 2003). Zbarvení je spojováno také s onemocněním CSNB.

Skvrny mají tendenci být symetrické a soustředné přes boky. Množství bílé se může lišit stejně jako umístění flíček. U některých jedinců jsou flíčky po celém těle, u jiných se zase nacházejí například jen na zádi. Charakteristické je bílé oční bělmo a také pruhovaná kopyta. Kolem očí, tlamy a konečníku je kůže růžová s malými flíčky (Bellone, 2013).

Studie Terry et al (2004) zkoumala přítomnost nebo nepřítomnost těchto vzorů pigmentace, které jsou kontrolované jediným autozomálním lokusem LP. Homozygotní koně (LPLP) mají méně pigmentu než heterozygoti. Byl zjištěn region chromozomu, který obsahuje koňský gen LP. Do této studie byly zahrnuty 2 rodiny (1 s 27 potomky a 2. s 20 potomky), přičemž potomstvo bylo po heterozygotních appaloosa hřebcích LPlp a jednobarevných klisnách lplp. Studie markerů prokázaly, že LP bylo ohraničeno mikrosatelity ASB08 a 1CA43. Tato oblast byla následně prozkoumána u jiného druhu a byla podrobněji zmapována.

3.4.5 Ostatní

3.4.5.1 Dominant white

Jedná se o bílé zbarvení řízené alelou W. Při přítomnosti heterozygotní sestavy (Ww) je kůň bílé barvy, kůže je růžová a oči modré nebo hnědé. Za přítomnosti dominantní sestavy (WW) se jedná o letální gen. Embryo s tímto genotypem umírá již v děloze (Sponenberg, 2003).

Pokud hřebce s celoplášťově bílou srstí spojíme s barevnými klisnami, vznikne 50% potomků bílé barvy a 50% potomků bude barevných. Při spojení s bílými klisnami se předpokládá, že pokud W je v homozygotní sestavě letální, je poměr bílých a barevných hříbat 2:1, namísto 3:1 očekávané v případě heterozygotních rodičů. Tento předpoklad však doposud nebyl podložen testem nebo výzkumem (Castle, 1954).

Fyziologický účinek alely W je považován za kompletní inhibitor barvy v plášti, i když u očí a na některých částech kůže tento fakt neplatí, jelikož jsou pigmentované (Castle, 1954).

Za tímto zbarvením stojí gen KIT, který hraje důležitou roli nejen zde, ale i v případě zbarvení grošák, sabino a tobiano. Objevení souvislostí s genem KIT probíhalo u všech čtyř barev nezávisle na sobě. Mutace způsobující dominantní bílou barvu není u všech koní totožná. U bílých koní Franches-Montagnes stojí za tímto jevem mutace c.2151C> G, p.Y717X v exonu 15. U bílých arabů se jednalo o mutaci c.706A> T, p.K236X v exonu 4. U jiných bílých koní byla zase nalezena mutace v exonu 13 c.1960G> A, p.G654R. Všechny tyto mutace však mají společnou jednu věc a sice, že všechny se nacházejí v genu KIT (Haase et al., 2007).

Stejným genem a jeho spojitostí s dominant white se zabývá také studie Haase et al. (2004). Uvádí, že tento gen je kromě pigmentace spojen také s normální funkcí melanogeneze, krvetvorby a také gametogeneze.

3.4.5.2 Grey

Barva Grey (u nás označována jako vybělující bělouš) je barva, kdy mladý kůň postupně vyběluje s věkem. Rychlost vybělování je u každého koně individuální, stejně jako množství bílých chlupů a také části, které vybělují (Sponenberg, 2003).

Hříbata mají tedy jakoukoliv základní barvu. Hříbata přirozeně vylínají z hříběcí podsady a zbaví se tak této tmavé barvy. Tato hříbata mají pak tmavě šedou barvu a postupně jim narůstají bílé chlupy. Úplné vybělení bývá pozorovatelné v šestém až osmém roce věku. U některých koní však k celkovému vybělení nedojde nikdy. Kůže i oči zůstávají tmavě pigmentované, a to i v případě, kdy hříbě vybělí do zcela bílé barvy (Bowling, 2000).

Toto zbarvení převažuje u plemen lipican, starokladrubský kůň, Camargue.. Za zbarvení grey je zodpovědný dominantní gen G. Tento typ vybělování není vrožený, ale progresivní (Castle, 1954).

Tento znak je spojen s vysokým výskytem melanomu a vitiligo. Fenotyp Grey je způsoben 4,6 – kb duplikací v intronu 6 genu STX 17 (Pielberg, 2008).

Curik et al. (2013) také zkoumal působení mutace v genu STX 17. Dle jeho závěrů se však v tomto případě nemůžeme opírat o jednoduchý způsob dědičnosti. Ten totiž v souvislosti s vybělováním ani melanomy nefunguje.

3.4.5.3 Roan

Zbarvení roan je u nás označované jako nevybělující bělouš. Hříbata se rodí nejčastěji tmavá, avšak jejich srst později tzv. prokvetá. Někdy má však hříbě „prokvetlou“ srst již při narození (Sponnenberg, 1996).

Podle Marklund (1999), je roan zbarvení řízeno pomocí dominantní alely, která je v homozygotní sestavě letální. V souvislosti s tímto zbarvením byl identifikován jako hlavní kandidát na tvorbu barvy roan gen KIT. Byla odhalena substituce v exonu 19. Pomocí metody PCR byla stanovena téměř kompletní sekvence genu KIT. U koní byly pro srovnání použity tři rozdílné sestavy lokusu (dvě odlišné Rn a jedna RN). Srovnání odhalila pět různých sekvencí a několik mRNA variant sestříhu. Žádná z nich však nebyla specificky spojena s Rn. Pomocí vložení elementu (LINE1) mezi exony 1 a 2 došlo u 30% zkoumaných koní k transkripci KIT. Souvislost mezi vložení elementu a zbarvením roan nebylo ověřeno u dalších koní se zbarvením roan. Studie posiluje hypotézu, že barva roan je řízena genem KIT, je však nutné provést další analýzy k odhalení mutace.

Studie barvy roan byly prováděny již dříve. Za zmínku stojí například studie Hintz (1979).

3.4.6 Přehled barev a jejich lokusů

Zbarvení srsti	Lokus	Geny
Ryzák	Extension lokus (ee)	MC1R
Hnědák	Dominantní extension (EE,Ee) + dominantní agouti (AA, Aa)	MC1R a ASIP
Vraník	Recesivní Agouti (aa)+ dominantní extension (EE,Ee)	MC1R a ASIP
Cream (krémová)	Lokus Cream (Cr)	SLC45A2
Silver (stříbrná)	Silver dapple (Z)	SILV
Champagne (zlaté tělo)	Champagne (Ch)	SLC36A1
Sabino-1 (zákl. barva s bílými odznaky, prokvetlá)	Sabino (SB)	KIT
Tobiano (zákl. barva a bílé skvrny)	Tobiano (To)	KIT
Dominant white (bílá – růžová kůže, tmavé oči)	White W (WW, Ww)	KIT
Frame overo (bílé nepravidelné skvrny)	Overo (O)	EDNRB
Grey (bělouš)	Grey (G)	STX17
Leopard complex (tmavé pravidelné tečky po těle)	Leopard spotting (Lp)	Spojeno s TRPM1
Roan (nevybělující bělouš)	Roan (Rn)	Spojeno s KIT

Tabulka 1 Geny ovlivňující zbarvení u koní

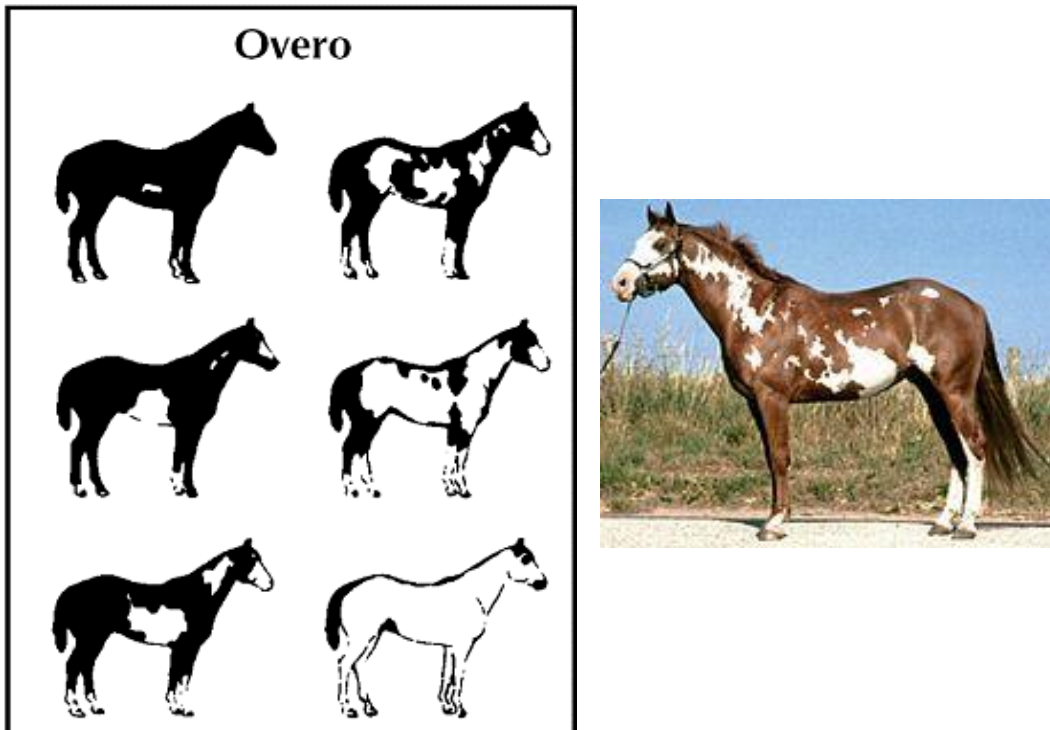
3.5 Onemocnění způsobovaná pleiotropií genů

3.5.1 Pleiotropie

Pleiotropie je definována jako jev, ve kterém se jeden lokus týká dvou nebo více odlišných fenotypových znaků. Termín byl oficiálně zaveden do literatury německým genetikem Ludwigem Platem v roce 1910. Pleiotropie má důležitý vliv v oblastech fyziologie i lékařství, ale také v evoluční biologii (Stearns, 2010).

3.5.2 Letální syndrom bílých hříbat – Lethal white foal syndrome (LWFS)

Letální syndrom bílých hříbat byl vůbec první poruchou, u níž byla zjištěna souvislost s pigmentací, a to se zbarvením zvané **overo** (viz. **Obrázek 1**). Takto zbarvený kůň má základní barvu a v ní bílé skvrny, které se obvykle nacházejí uprostřed boku koně. Množství bílé barvy se různí a může tak ztěžovat klasifikaci zbarvení. Častým znakem u tohoto zbarvení je také výskyt depigmentovaných čili modrých očí, ať už je modrá pouze část oka, oko celé či oči obě. Oční poruchy však nejsou v souvislosti se zbarvením overo prokázány (Bellone, 2010a).

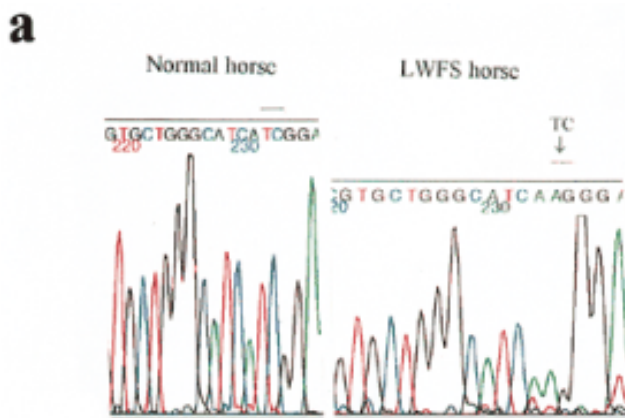


Obrázek 2 Zbarvení Overo (vlevo :zdroj: <https://s-media-cache-ak0.pinimg.com/originals/93/84/93/938493b33f4071983745a2b53a86bb30.jpg>, vpravo: Webb and Cullen, 2010)

Letální syndrom bílých hříbat je vrozená anomálie u koní. Vyznačuje se bílou srstí a špatným vývinem střeva. Tato anomálie je velmi podobná Hirschsprungovi nemoci (HSCR), která se vyskytuje u lidí. HSCR je vrozené lidské onemocnění charakterizované nepřítomností gangliových buněk v distální části gastrointestinálního traktu (tzv. aganglionosis).

U koní je toto onemocnění považováno za multifaktoriální (podmíněné jak geny, tak i jinými faktory (vnější prostředí)) a modifikované podle pohlaví. Dochází ke genové mutaci ve dvou párech membránových receptorů, a to sice RET-gliových receptorů (GDNF) a endotelin-B receptorů (EDNRB) (Yan et al., 1998).

Kombinace bílého pláště s malými nebo žádnými barevnými skvrnami a s rozsáhlou aganglionosis byla popsána také ve vrozené anomálii LWFS, která se projevuje jako fatální novorozenecká střevní obstrukce. LWFS nejčastěji vyplývá z páření overo x overo paint koní. Podobnost v klinickém a histologickém vyšetření a také v pigmentovém fenotypu byla pozorována u hlodavců, což vedlo k podezření, že defekt genu EDNRB může způsobit LWFS. Z tohoto důvodu došlo k rozhodnutí poprvé izolovat a identifikovat cDNA v celé délce genu EDNRB u standardně chovaných koní. Při pozorování této sekvence a porovnání koní s LWFS byla zjištěna TC→AG dinukleotidová mutace v genu EDNRB u LWFS koní (obrázek 3). Dochází tak ke změně isoleucinu na lysin (Yan et al., 1998).



Obrázek 3 Mutace u LWFS (Yan et al. 1998.)

Podle Webb and Cullen (2010) hříbata narozená s letálním syndromem bílých hříbat (LWFS) jsou typicky zcela bílá, mají modré duhovky (Obrázek 4) a jejich rodiči jsou koně se zbarvením overo. Porod u nich proběhl v pořádku a jeví se jako zdraví jedinci. Po několika hodinách se však u hříbat začnou projevovat příznaky koliky a všechna hříbata s těmito problémy nakonec podlehnou jejich zhoršenému stavu. Léčba u postižených hříbat je prozatím neúspěšná.



Obrázek 4 Hříbě postižené LWFS (Lightbody (2002))

Při posmrtném vyšetření postiženého hříběte je odhalen špatně vyvinutý trávicí trakt. Při histologickém vyšetření je objevena nepřítomnost či porucha enterického nervového systému, což je systém, který řídí stahy svaloviny trávicí trubice u žaludku a tím posunuje krmiva dále do dalších částí trávicího traktu.

Postižené hříbě se narodí se dvěma kopiemi genu EDNRB, který je poškozen (mutace NM_001081837.1:c.353_354delinsAG). Následkem dvou kopií tohoto zmutovaného genu je, že buňky nemigrují na pokožku nebo do střeva přiměřeně, následkem čehož se narodí bílé hříbě s poškozeným či nevyvinutým trávicím traktem.

Podobný stav má za následky také již zmíněná Hirschprungova nemoc u lidí, kde se provede resekce tlustého střeva, což může jedince zachránit. U koně tento chirurgický zákrok není možný, z důvodu vysokého podílu tlustého střeva na trávení. Hříbata jsou proto humánně usmrcena.

Riziko výskytu tohoto syndromu by mělo být zohledňováno při chovu. Nemělo by docházet k páření dvou heterozygotních rodičů. Právě v takových případech dochází k výskytu postižených hříbat. Tímto způsobem by bylo možné eliminovat mutovaný gen EDNRB z populace (Webb and Cullen, 2010).

Spojivosti mezi LWFS (v následném výzkumu nazýván OLWS) a touto mutací byly již podrobeny řadě výzkumů. Příkladem může být výzkum v Americe Santschi et al. (2001), kde podrobili zkouškám 945 bíle zbarvených koní a 55 koní jiných barev a plemen. Závěry potvrdily, že homozygoté s Ile118Lys EDNRB mutací způsobili OLWS (overo lethal white syndrom). U heterozygotů je pak tato mutace zodpovědná za vznik overo fenotypu. Široký výskyt heterozygotů v odlišných vzorech koní se strakatým zbarvením srsti naznačuje odlišnou genetickou kontrolu barevných vzorů. Stanovení EDNRB genotypu pomocí analýzy DNA testu je tedy jediným způsobem, jak s jistotou určit, zda strakatí koně mohou produkovat hříbě postižené OLWS.

Studii na téma LWFS je mnoho. Za zmínku stojí například McCabe et al. (1990), kde jsou díky patologickým studiím objasňovány hypotetické modely dědičnosti této nepříznivé mutace.

Někteří nositelé stejného fenotypu, jako je u overa, byli nalezeni také u zbarvení tobiano, což naznačuje epistatický vztah ke zbarvení overo. Postižení LWFS se však u tobiano koní zatím neprojevovalo (Metallinos et al., 1998).

Mezi nejnovější studie tohoto tématu jistě patří Ayala-Valdovinos et al. (2016). Je zde zkoumána stejná mutace genu EDNRB jako v předchozích studiích, avšak jedná se o novou techniku výzkumu. Díky ní je jednoduché detekovat EDNRB genotyp u koní.

3.5.2.1 Hluchota

Před identifikací mutací LWFS byla hluchota spojována s touto poruchou, nicméně nebylo známo, zda byly takto ovlivněny všechna hříbata s LWFS. Studie prováděná Magdesian et al (2009) zkoumala hluchotu u American paint horse, včetně těch s mutací NM_001081837.1:c.353_354delinsAG genu EDNRB. Mezi těmito koňmi, u kterých byla potvrzena hluchota nebo na ní bylo podezření od jejich vlastníků, byla srst u většiny zbarvená splashed white (zbarvení, kdy má kůň nejčastěji bílé nohy, hlavu a břicho, bílá barva je výrazně ohraničená). Tři hříbata s LWFS měla potvrzenou hluchotu před smrtí. Kromě toho 91% koní s potvrzením nebo podezřením hluchoty neslo mutaci NM_001081837.1:c.353_354delinsAG.

Tyto souvislosti naznačují, že EDNRB může hrát významnou roli u hluchoty. Nicméně podobně jako u strakatosti, mohou být i u tohoto poškození zapojeny další geny. Jeden z nich je pravděpodobně také gen/geny zodpovědné za zbarvení splashed white, které u koní zatím nebylo molekulárně charakterizováno. Odhalení genetického mechanismu této barvy bude pravděpodobně velmi důležité při objasňování spojitosti zbarvení splashed white a hluchoty.

Všechna zkoumaná hříbata s LWFS ve studii byla sice hluchá, ale velikost vzorku byla příliš malá (N=3). Nelze tedy dospět k závěru, že je hluchota spojena přímo s LWFS (Bellone, 2010a).

3.5.3 Levandulový syndrom hříbat – Lavender foal syndrome (Coat color dilution lethal (CCDL))

Podle Webb and Cullen (2010) je tento syndrom pozorovatelný u hříbat arabských koní. Jak je již z názvu patrné, hříbata se rodí se zředěnou barvou srsti. Barva srsti je pak podobná jako stříbro, cín, levandule nebo narůžovělá.

Postižená hříbata jeví neurologické abnormality již při narození. Například se nepřirozeně prohýbají v hřbetu, jedná se o jakési „křeče“ a to buď stálé, nebo přerušované (opistotonus). Dalšími znaky syndromu jsou přerušované, škubavé pohyby končetin, ztuhlost napínačů v končetinách, šilhání nebo tzv. nystagmus neboli záškuby očí (Gabreski et al., 2012).

Hříbata nejsou schopna se dostat z pozice, kdy leží na boku. Sací reflex bývá obvykle v pořádku, ačkoli v některých případech může být slabý. Hříbata mají také zdánlivě odpovídající mentalitu, ale vzhledem k závažnosti postižení, jsou hříbata utracena brzy po narození. Žádný lék nebo ošetření prozatím neexistuje.

Nositeli této mutace je přibližně 10 % egyptských arabů a jen 1,8 % arabů bez egyptské krve. Za vadu je zodpovědná mutace genu MYO5A, která vede ke zředění barvy srsti a také k těmto neurologickým abnormalitám. Podobně jako u LWFS i Levandulový syndrom hříbat je přenášen jako autozomální recesivní onemocnění (Webb and Cullen, 2010).

Příčinou mutace je změna čtecího rámce, kdy je v exonu 30 zaveden předčasný stop kodon (p.Arg1487AlafsX13). Výsledný protein je zkrácen skoro o polovinu aminokyselin. Stejná mutace byla popsána také u myši, krys, ale i u lidí (Bierman et al., 2010).

Pomocí nového typu skenování genomu (SNP) jakéhokoliv znaku a následným testem zvaným RFLP, je zde možnost pomoci chovatelům vyhnout se nositelům této vady a jejich následnému páření. Tímto způsobem je možno provádět prevenci před narozením postižených hříbat (Brooks et al., 2010).

Významnou studii této problematiky provedl také Fanelli (2005), kdy se zajímal o historické případy této poruchy označované jako smrtelné ředění barvy srsti (CCDL), jinak známé jako syndrom levandulových hříbat u arabských koní. Jde v podstatě o výskyt tetanie u novorozených arabských hříbat z Egyptského chovu.

Historické případy:

- a) Arabský hřebeček narozen po normální březosti. Brouzdavé pohyby (pohyb= nekoordinované pohyby končetin připomínající brouzdání končetin, hříbě je v jakýchsi křečích), opistotonus, neschopný stát, silný sací reflex. Hematologie i další vyšetření normální, po dvou dnech intenzivní léčby bez zlepšení, rozhodnutí pro eutanázii. Postmortální vyšetření odhalilo nekrózu sleziny, lipidózu jater...Hříbě mělo levandulový odstín, zbarvení bylo světle hnědého.
- b) Arabský hřebeček, narozen bez pomoci. Opistotonus a brouzdavé pohyby každých 15 minut po narození. Bez zlepšení po 24 hodinách eutanázie. Postmortální vyšetření ukázalo léze a odřeniny u tlakových bodů. Hříbě mělo světle hnědou levandulovou barvu.
- c) Hřebeček arab, opistotonus, brouzdavé pohyby. Rozhodnutí pro eutanázii, postmortální vyšetření není k dispozici. Zbarvení bledá, hnědá až růžová.
- d) Klisnička araba, narozena s asistencí, neschopna vstát, periodicky opakované brouzdavé pohyby a opistotonus, tuhé přední končetiny, velmi světlá, hnědá barva se stříbrným odstínem. Provedena eutanázie, postmortální vyšetření neodhalilo léze v CNS ani v jiných orgánech, pouze velké shluky melaninu u kořínků srsti.
- e) Klisnička araba, narozena bez pomoci po normálním těhotenství, neschopná se postavit, poloha vleže, přerušovaný opistotonus a brouzdavé pohyby. Eutanázie, postmortální vyšetření není k dispozici, velmi světlá, hnědá barva.
- f) Šedé arabské hříbě, klisna, s mírným levandulovým odstínem. Narozena s pomocí po normální březosti, silný sací reflex, ale neschopná se postavit. Opistotonus, brouzdavé pohyby, tuhé končetiny, vředy na rohovce, odřeniny na tlakových bodech byly zřejmé. Normální hlava a krk po radiologickém vyšetření. Po 6 dnech léčby bez zlepšení, eutanázie. Postmortální vyšetření neodhalilo žádné léze v nervovém systému nebo jiných orgánech. Atelaktáza (nevzdušnost) plic a shluky melaninu u kořínků srsti.

Klinické příznaky vypadají jako tetanie. Žádné normální období mezi epizodami záchvatu – třeba odlišit od novorozenecké sepse, neonatální encefalotapie a benigní epilepsie, která se většinou po určité době zlepší a záchvaty ustupují (cca v 18.měsíci věku). Při narození hříbata normální, problémy se dostavují do 24 hodin. Nedostatek migrace melanocytů je spíše na závadu v rámci pigmentové buňky. Tetanie se nevyskytuje v děloze, ale zdá se, že je započata až po porodu (Fanelli, 2005).

Page et al. (2006) provedli podobně jako v předchozím případě podrobnou studii této problematiky. Přesně popsali první hodiny po narození postiženého hříběte a všechny obtíže spojené s touto mutací. Po následném utracení hříběte podrobili tělo důkladnému patologickému a histologickému vyšetření.

U arabských hříbat v Jižní Africe je výskyt levandulového syndromu (LWFS) poměrně detailně zkoumán. Jejich prevalencí v populaci se zabývá Tarr et al. (2014). Získávají informace z čistokrevných arabských chovů a porovnávají jednotlivé chovy mezi sebou.

3.5.4 Vrozená stacionární noční slepota u koní appaloosa - Congenital stationary night blindness (CSNB)

Vrozená stacionární noční slepota byla objevena u několika různých druhů živočichů včetně psů, koní, myší, ale i člověka. Jak je již z názvu patrné, jedná se o vrozenou vadu. Byla popsána u různých plemen koní. Nejvíce studií se soustředí na koně appaloosa, u kterých se tato vada vyskytuje (Webb a Cullen, 2010).

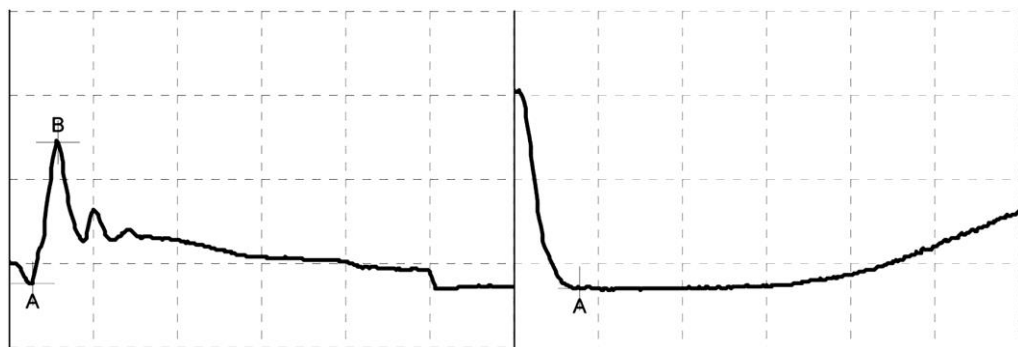
Postižená zvířata se dají poznat podle opatrnosti jejich chování v málo osvětlených podmínkách, takže i jejich trénink je při nedostatečném osvětlení velmi náročný. Může docházet k šilhání a k zarudnutí očí. U koní appaloosa je tato vada spojena s jejich zbarvením srsti. Za leopardí komplexní fenotyp odpovídá totiž mutace genu TRMP-1, který se nachází také v sítnici. A právě jeho mutace způsobuje nejen atraktivní zbarvení, ale může mít za následek také měsíční slepotu (Webb and Cullen, 2010).

Noční vidění je možné díky fotoreceptorům v sítnici. Mutace vedou k narušení odezvy a dochází tedy k dysfunkci a zhoršené orientaci v šeru. A právě jednou skupinou takové poruchy sítnice je i syndrom CSNB. Jak již bylo řečeno, u koní se tento problém týká především koní se zbarvením appaloosa. Postižená zvířata mají nejdříve zhoršené vidění při ztížených podmínkách s menší intenzitou světla. Následně se však jejich problémy prohlubují a koně mají problém s orientací i při normálním světle. U lidí je velmi podobným postižením tzv. lidský typ vrozené slepoty Schubert-Bornschein (Audo et al., 2009).

Díky analýzám genové exprese bylo zjištěno, že gen TRPM1 známý také jako melastatin je zodpovědný za regulaci pigmentu kůže a sítnice a také je potvrzená jeho důležitost pro noční vidění. Bylo tedy zjištěno, že kromě syndromu CSNB má tento gen odpovědnost také za zbarvení appaloosa (Audo et al., 2009).

Mutace zodpovědná za CSNB v genu TRPM1 zůstává neznámá a je předpoklad pravděpodobné spojitosti s expresí nebo stabilitou v mRNA genu TRPM1 (Bellone et al., 2010b).

Bellone et al. (2008) se detailně zabývali různými typy zbarvení appaloosa a jejich spojitostmi s CSNB. Výskyt CSNB zaznamenal především u dominantních homozygotů (LP/LP).

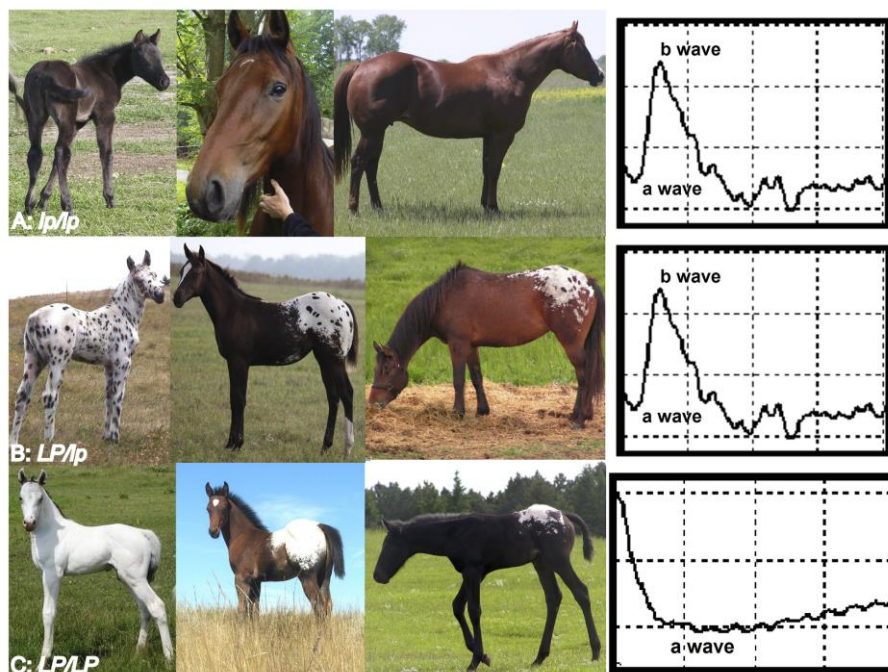


Obrázek 5 Elektoretinogram lp/lp appaloosa (vlevo) a LP/LP appaloosa (vpravo). Vpravo vidíme typickou absenci b-vlny (Bellone et al., 2008)

Právě díky absenci b-vlny (obrázek 5) na elektoretinogramu (ERG) a také díky výsledkům z reflektometrie je pravděpodobné, že se u CSNB jedná pravděpodobně o vadu nervového přenosu (Witzel et al., 1978).

Prevalencí CSNB u appaloosa koní se zabývali také v Kanadě, kde tuto problematiku zkoumal Sandmeyer et al. (2007).

Podle Bellone et al. (2013) se u koní s genotypem lp/lp leopard komplex neprojevuje. Fenotyp neprojevuje žádné náznaky zbarvení appaloosa a koně netrpí CSNB, o čemž svědčí také jejich normální ERG. Koně s genotypem Lp/lp již projevují známky zbarvení appaloosa. Zobrazí se u nich jeden z několika charakteristických vzorů, které se mezi sebou liší v množství pigmentovaných a nepigmentovaných chlupů. V srsti těchto koní se již vyskytují charakteristické „leopardí skvrny“. Ani tito koně však nevykazují jakékoliv příznaky CSNB. Koně s genotypem LP/LP mají charakteristické vzory s různým množstvím bílé v plášti a jen s nepatrným množstvím či rovnou s absencí „leopardích skvrn“ (obrázek 6). A právě u těchto koní pozorujeme CSNB, což dokazuje také jejich abnormální ERG, ve kterém je nepřítomna b-vlna.



Obrázek 6 Elektroretinogram homozygotů s CSNB (LP/LP) a zdravých koní (Bellone et al., 2013)

Existuje také podezření o přítomnosti CSNB u miniaturních koní za předpokladu, že jsou zbarveni vzorem leopard komplex. Sandmeyer et al. (2012) zjišťuje, zda je CSNB u miniaturních koní zapříčiněna mutací v genu TRPM1 podobně, jako je tomu u koní appaloosa.

CSNB a její spojitostí se zbarvením appaloosa se zabývá také studie Bellone et al., (2010a,b) nebo Nunnery et al. (2005), který se zabývá CSNB u jiných koní než u appaloosa. Konkrétně studují plnokrevné koně a koně plemene Paso fino.

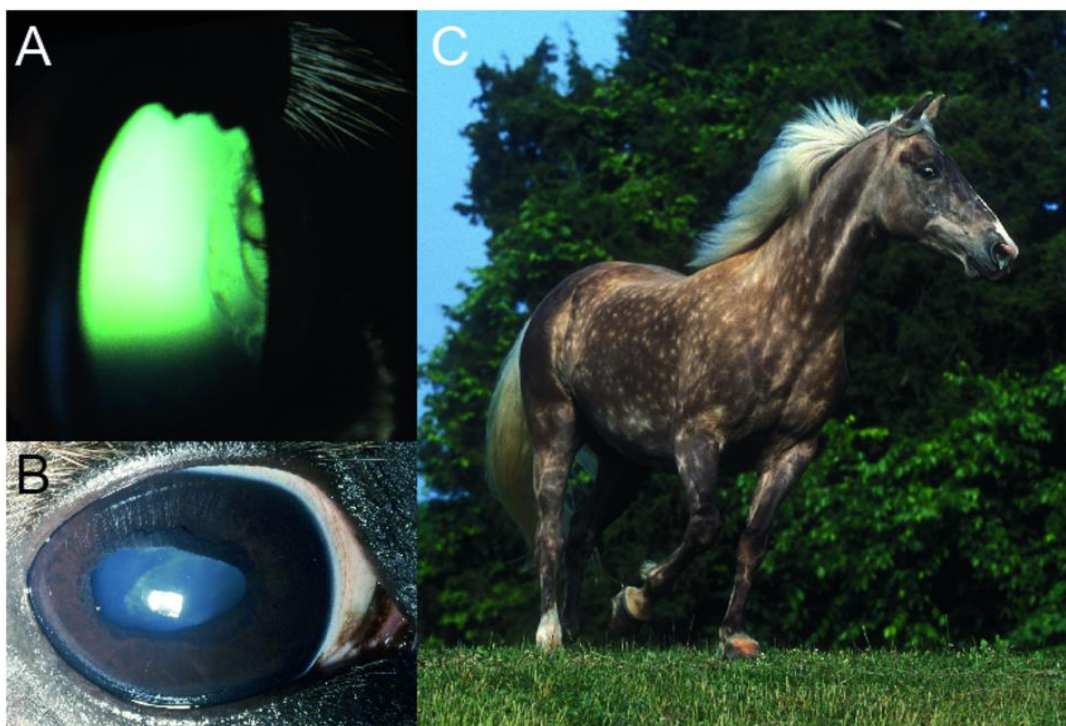
3.5.5 Mnohonásobné kongenitální oční anomálie - Multiple congenital ocular anomaly (MCOA) syndrome in horses

Webb and Cullen (2010) udávají, že syndrom MCOA byl popsán přibližně před 16 lety (ve vztahu k publikování článku (2010)) u amerického plemene koní zvaného Rocky Mountain horse. Od té doby byl syndrom objeven také u jiných čistokrevných plemen i kříženců Rocky Mountain horse a Kentucky Mountain horse pocházejících z Kanady. Dalšími postiženými plemeny jsou Mountain Pleasure horse, plemeno Morgan, belgický kůň a americký miniaturní kůň.

Podle Andersson et al. (2008) a Andersson et al. (2013) mohou být zvířata ovlivněna dvěma různými způsoby (fenotypy). U prvního tzv. Cysta fenotypu se u jedince vyskytují cysty vznikající z řasnatého tělíska, periferní sítnice nebo duhovky. Častým problémem vyskytujícím se současně s cystami může být také dysplazie (neúplný vývin) a odchlípení sítnice. Předpokládá se, že tento fenotyp onemocnění se nachází především u heterozygotů.

Jedinec postižený druhým fenotypem (MCOA fenotyp) trpí všemi očními anomáliemi vyskytujícími se u prvního typu. Navíc se u koně trpícího tímto fenotypem může vyskytovat také vrozený šedý zákal, kuželovitá rohovka (cornea globosa) či neúplně vyvinutá duhovka (iris hypoplasia). Tyto poruchy se mohou vyskytovat v různých kombinacích a také mohou být různě závažné. Důsledky bývají velmi vážné a mohou vést až k úplné ztrátě zraku či k ophthalmoparesis (slabost svalů duhovky). Je zajímavé, že tlak uvnitř oka je stejný jak u zdravých, tak u nemocných jedinců. Tento fenotyp, který má různou škálu abnormalit, se vyskytuje naopak u homozygotů (Andersson et al., 2013).

Problém se obvykle vyskytuje u koní se stříbrnou barvou srsti (silver). Nelze ještě zcela s jistotou říci, že mutace spojená se stříbrným zbarvením je zodpovědná za MCOA. Probíhají studie, které tuto hypotézu pečlivě ověřují. Nicméně výskyt MCOA je u stříbrných koní nejčastější (Andersson et al., 2011).



Obrázek 7 Klinické příznaky MCOA a zbarvení silver u Rocky mountain horse (Andersson et al., 2013)

Poprvé bylo MCOA identifikováno u koně plemene Rocky mountain horse (RMH), přičemž více než 50 % z 514 zvířat ve studii bylo do určité míry ovlivněno. Přednostní barva tohoto plemene byla popsána jako čokoládová se lněnou hřívou a ocasem. Toto stříbrné nebo stříbrně skvrnitě zbarvení srsti vyjadřuje mutaci PMEL17 známou jako bohatý stříbrně skvrnitý gen. A právě u tohoto zbarvení je podezření na spojitost s MCOA. Tato spojitost byla nyní identifikována také u jiných plemen včetně příbuzného RMH Kentucky mountain horse a nepříbuzného Islandského koně či amerického miniaturního koně. Tato plemena, u nichž se „stříbrný“ gen vyskytuje s menší frekvencí, dala větší důvěryhodnost spojení MCOA a PMEL17. Tuto hypotézu se následně podařilo potvrdit ještě u dalších plemen. Bez ohledu na závažnost, ovlivnění koně málokdy vykazují chování spojené s vizuální dysfunkcí (Matthews et al., 2013).

Výzkumy prováděné na 514 koních plemene Rocky mountain pony byly prováděny pomocí měření nitroočního tlaku. Oči byly také ze 6 koní získány pro histologii. Nejčastěji byly zjištěny cysty na duhovkách, řasnatých těliscích a u periferní sítnice. Konkrétně byly tyto abnormality nalezeny u 249 koní. Méně početný byl již problém s odchlípnutím sítnice. Tato abnormalita nastala u počtu koní, který nepřesahoval 189. Dysplazie byla pak nalezena u 125 koní. Na první pohled rozpoznatelné oční anomálie byly pozorovány u 71 koní. Byly vždy symetrické. Postižené oči měly velké, čisté rohovky, které nepřirozeně vyčnívaly a měly velmi malý poloměr zakřivení. Dále se objevovaly snížené reakce na světlo.

U některých jedinců se nedařilo rohovku rozšířit ani pomocí aplikace myadritických drog. Méně často se pak objevovaly například iridokorneální srůsty (srůsty mezi duhovkou a čočkou) (Ramsey et al, 1999).

Gen byl nalezen na chromozomu 6 a má tzv. kodominantní dědičnost. Jedinci s touto mutací mohou být identifikováni, což umožňuje prevenci tohoto onemocnění z hlediska přenosu na budoucí generace (Webb and Cullen, 2010).

Je zjevné, že je žádoucí eliminovat konkrétní alelu, nicméně vzhledem k estetickým preferencím stříbrného zbarvení u určitých plemen je frekvence tohoto velmi vysoká. Vlastníci takto zbarvených koní by měli být poučeni o riziku jejich chovu (Matthews et al., 2013).

Problematikou se zabýval také Komáromy et al. (2011). Ten poruchu MCOA zkoumal u 5 poníků, kteří neměli nic společného až na jedno. Všichni se vyznačovali zbarvením silver kromě jednoho, který byl zbarven barvou palomino, avšak i on měl v genotypu zbarvení silver. Odběrem a následnými rozbory jejich krve získali DNA, která vykazovala známky MCOA genotypu v genu PMEL17 v exonu 11.

Pomocí sonografie v oblasti očí zkoumal postižené koně Ségard et al. (2013). V této studii byli zkoumáni koně, klasifikovaní jako nosiči mutantní alely na genu PMEL17, ale i koně, kteří nosiči nebyli. Koně sem byli zařazeni na základě zbarvení, či díky genetickému testování. U všech zkoumaných koní bylo následně provedeno sonografické vyšetření očního pozadí. U 88,24 % všech zkoumaných koní, kteří měli v genotypu alespoň jednu kopii silver mutantní alely, byla nalezena postižení související s MCOA (šedý zákal, odchlípení sítnice, cysty..). U přenašečů byla významně větší hloubka přední komory ve srovnání s koňmi, kteří postižení nepřenášejí.

Zástupci plemene Rocky mountain horse a Kentucky horse působící v Evropě byli podrobena studiím v letech 1999 až 2010. V Zurichu tyto studie prováděli Kaps a Spless (2010). Podle jejich studie je výskyt MCOA v Evropě nižší oproti Spojeným státům.

Spojení s plemenem Rocky mountain horse je často studovanou problematikou (např: Plemmer a Ramsey (2011)). Avšak byly provedeny také studie zaměřující se na spojitost s jinými plemeny. Například s plemenem Comtois. Potvrzení, že se MCOA způsobená mutací v genu PMEL17 vyskytuje také u plemene Comtois, dodali Depecker et al. (2013) ve své studii, do níž bylo zapojeno přes 70 koní plemene Comtois. Plemeno Comtois bylo podrobena také dalším studiím. Uhynulou klisnu plemene Comtois zkoumali pomocí magnetické rezonance, sonografie a histologie také Oosterlinck et al. (2015). Spojitost zbarvení silver a MCOA byla také nalezena u shetlandských pony (Premont et al., 2013).

3.5.6 Melanom

Melanom je onemocnění vyskytující se u mnoha plemen koní. Bělouši bez ohledu na plemeno vykazují vysoký výskyt kožních melanomů. Bylo prokázáno, že mutace genu syntaxin 17 způsobená 4,6-kb duplikací v intronu 6 zodpovědná za vybělování koní (L*), je spojená s výskytem melanomu a vitiligo, ale musí být zapojeny také další faktory ovlivňující tvorbu melanomu (Curik et al., 2013).

Někdy dochází k podcenění potenciálu melanomu, který je opravdu život ohrožující. Na rozdíl od všeobecně se jevící zásady, že pomalu rostoucí melanom bývá často benigní, zde se tato zásada použít nedá. Pomalý růst u tohoto melanomu totiž nezaručuje jeho benigní klasifikaci. Koňský melanom je zhoubný nádor, jenž často metastázuje (Moore et al., 2013).

Obzvláště náchylní k výskytu melanomu jsou stárnoucí, vybělující koně. Melanom by se dal označit za unikátní znak stárnoucího vybělujícího koně. Tato náchylnost je až zarážející a v některých populacích bylo tímto onemocněním poškozeno až 80 % dospělých jedinců (Rieder et al., 2000). Kožní melanom je černě pigmentovaný polokulovitý nádor. Dle Hofmanová et al. (2015), ale i dalších vědců, se kožní melanom vyznačuje pevnou konzistencí a nejčastěji ho lze nalézt u konečnicku a v perineální oblasti. Často se vyskytuje pod ocasem. V takové podobě se vyskytuje nejen u starokladrubských koní, ale také u ostatních plemen.

U melanomu se můžeme setkat také s formou známou pod pojmem vitiligo. Jedná se o úkaz, který se naopak vyznačuje kožní depigmentací. Vitiligo můžeme nalézt na různých částech těla (hlava – vitiligo F a zadní části těla pod ocasem, anální a perianální oblast, u vemínka i předkožky – vitiligo A). Nejvyšší vliv na výskyt vitiliga má především věk a úroveň vybělování (potvrzení spojitosti mezi vitiligo a celkovou ztrátou pigmentace v ochlupení). Vliv má také příslušnost k určité linii. V některých liniích je výskyt vyšší, u některých nižší.

Fenotypové korelace mezi melanomem a vitiligo a úrovní vybělení byly u Hofmanové et al. (2015) odhadnuty pomocí Pearsonova korelačního koeficientu. Podle výsledků lze říci, že u koní s výskytem vitiligo A, tedy s vitiligem v zadní části těla, lze očekávat vyšší možnost výskytu melanomu.

Na přítomnost melanomu byly vyšetřeny chovné klisny starokladrubského koně. 26 klisen bylo klasifikováno jako negativní (prům. věk 11, rozpětí 7-23 let), 24 pak jako pozitivní (prům. věk 16, rozpětí 7-18 let). Následně dochází k prostudování DNA. Z výsledků jsou dány předběžné důkazy o určitých genech odolnosti, avšak bylo prostudováno jen velmi málo koní a populací. Z důvodu malého počtu studovaných jedinců nelze vyvozovat jednoznačné závěry. Identifikované markery by však mohly být dále zkoumány jako nástroje pro program ochrany s cílem snížit výskyt melanomu bez snížení rozmanitosti a specifčnosti populace (Futas et al., 2012).

V jiném pokusu byly posuzovány klinické a patologické nálezy u 14 koní s metastazujícím melanomem. Všichni byli starší, šedí koně s průměrným věkem 16 let. Mezi nejčastější místa primárních nádorů patřily příušní slinné žlázy a ventrální část u kořene ocasu. Mezi nejčastější místa pro metastázy patřily lymfatické uzliny, játra, slezina, kosterní svaly, plíce a okolí krevních cév po celém těle. Mnoho koní mělo kožní melanomy již poměrně dlouhou dobu před tím, než podlehlí metastazujícímu onemocnění. S melanomy žili v rozmezí 1-6 let (MacGillivray et al., 2002)

Na výskyt u koní plemene Camrgue se zaměřila Fleury et al. (2000a). I u tohoto plemene se nejčastěji melanom nachází v oblasti pod ocasem (přes 93 %). Nádorové léze jsou složeny především z melanocytů a melanophagu. Pod mikroskopem je viditelná výrazná buněčná atypie. Tvorba nádorů souvisí s melanogenezí. Tyto melanomy jsou poměrně podobné těm lidským.

Počet a výskyt kožních melanomů výrazně koreluje s věkem (jak již bylo naznačeno), velmi malou korelaci pak kožní melanomy vykazují vůči pohlaví. Prevalence melanomů u zkoumané populace koní Camargue dosahovala 34,1 %. U koní starších než 15 let pak prevalence dosahovala 67 %, což opět potvrzuje vysokou korelaci s věkem (Fleury et al., 2000b).

Podle Lerner et al (1973) mezi plemena s poměrně vysokým výskytem melanomu patří také arabští koně. Do výzkumu byla zapojena farma v Marylandu. Klisny zde byly často bílé barvy. Hříbata se rodila tmavě hnědá. Samozřejmě si někteří z nich zanechali hnědou barvu i do dospělosti. Často však docházelo k postupnému vybělování s věkem. Dospělá zvířata pak byla nejčastěji šedé nebo bílé barvy. Část jejich nosu byla obvykle bez pigmentu již při narození (vitiligo F). Ve 2 letech věku začínala být již šedě zbarvená a v 9 letech byla již většina jedinců bílé barvy. Bílá skvrna na nose zůstává v nezměněné podobě od narození. Po 2.roce věku také někdy dochází ke ztrátě pigmentu v očích a v okolí konečnicku. Mnoho koní ve stádě žilo s vyvinutými melanomy, a to více než 5-6 let. Nádory se začínaly tvořit nejčastěji v oblasti konečnicku. Na první pohled by se dalo říct, že před objevením melanomu dojde k zešednutí srsti. Toto tvrzení však není zcela přesné, jelikož nádory metastázuji několik let a je možné, že prvotní nádory byly vyvinuté již dříve, avšak jejich rozvoj nastal teprve po ztrátě pigmentu. Koně obvykle umírají na obstrukci střeva či na následky metastáz. Metastatické léze se nacházejí nejčastěji v tenkém střevě a srdci.

Stejně zbarvení jako u zkoumaných arabských koní a větší výskyt melanomů byl pozorován také u Lipických koní. Stejně jako v předchozím případě se hříbata rodí tmavě hnědá a postupně vybělují. A opět koně, u kterých došlo k vybělení přibližně ve 2 letech, vykazovaly vysoký výskyt melanomů (Seltenhammer et al., 2003).

4 Závěr

Vzhledem k vyspělosti dnešních technologií v genetických oborech jsme schopni některé z problémových genů rozpoznat a prozkoumat. Pomocí dnešních technologií tak umíme určit, který gen stojí za chorobou a také jaká mutace v něm tuto chorobu způsobila. Můžeme tedy přesně porovnat zdravého jedince s jedincem postiženým některou ze zmíněných chorob a studiem jejich DNA určit, jaké odchylky mezi sebou mají.

Díky pokroku je možné se vyvarovat určitým postupům vedoucím k poruchám. Často ovšem tato postižení souvisí s žádanou barvou srsti. Ačkoliv jednoduchým řešením by bylo vyřadit takto zbarvené jedince z chovu, z důvodu právě žádanosti těchto barev je to problematické.

Kůň je velmi složitý organismus a stále je mnoho neobjasněných anomálií, kterým nejsme schopni zabránit. A možná toho nikdy schopni nebudeme.

5 Zdroje

- A. G. (2013). Multiple congenital ocular anomalies and the silver dapple gene. *Equine Veterinary Education*, 25(11), 556-557
- A.M. Stachurska, Inheritance of primitive markings in horses, *J. Anim. Breed. Genet.*, 116 (1999), pp. 29-38
- Andersson, L. S., Juras, R., Ramsey, D. T., Eason-Butler, J., Ewart, S., Cothran, G., Lindgren, G. (2008). Equine Multiple Congenital Ocular Anomalies maps to a 4.9 megabase interval on horse chromosome 6. *BMC genetics*, 9(1), 88.
- Andersson, L. S., Axelsson, J., Dubielzig, R. R., Lindgren, G., Ekesten, B. (2011). Multiple congenital ocular anomalies in Icelandic horses. *BMC veterinary research*, 7(1), 21.
- Andersson, L. S., Wilbe, M., Viluma, A., Cothran, G., Ekesten, B., Ewart, S., Lindgren, G. (2013). Equine multiple congenital ocular anomalies and silver coat colour result from the pleiotropic effects of mutant PMEL. *PloS one*, 8(9), e75639.
- Audo, I., Kohl, S., Leroy, B. P., Munier, F. L., Guillonneau, X., Mohand-Saïd, S., Kellner, U. (2009). TRPM1 is mutated in patients with autosomal-recessive complete congenital stationary night blindness. *The American Journal of Human Genetics*, 85(5), 720-729.
- Ayala-Valdovinos, M. A., Galindo-García, J., Sánchez-Chiprés, D., Duifhuis-Rivera, T. (2016). New test for endothelin receptor type B (EDNRB) mutation genotyping in horses. *Molecular and cellular probes*, 30(3), 182-184.
- Bellone, R. R., Brooks, S. A., Sandmeyer, L., Murphy, B. A., Forsyth, G., Archer, S., Grahn, B. (2008). Differential gene expression of TRPM1, the potential cause of congenital stationary night blindness and coat spotting patterns (LP) in the Appaloosa horse (*Equus caballus*). *Genetics*, 179(4), 1861-1870.

- Bellone, R. R., Forsyth, G., Leeb, T., Archer, S., Sigurdsson, S., Inslund, F., Grahn, B. (2010a). Fine-mapping and mutation analysis of TRPM1: a candidate gene for leopard complex (LP) spotting and congenital stationary night blindness in horses. *Briefings in functional genomics*, 9(3), 193-207.
- Bellone, R. R., Archer, S., Wade, C. M., Cuka-Lawson, C., Haase, B., Leeb, T., Grahn, B. (2010b). Association analysis of candidate SNPs in TRPM1 with leopard complex spotting (LP) and congenital stationary night blindness (CSNB) in horses. *Animal Genetics*, 41(s2), 207-207.
- Bellone, R. R. (2010c). Pleiotropic effects of pigmentation genes in horses. *Animal genetics*, 41(s2), 100-110.
- Bellone, R. R., Holl, H., Setaluri, V., Devi, S., Maddodi, N., Archer, S., ... and Reissmann, M. (2013). Evidence for a retroviral insertion in TRPM1 as the cause of congenital stationary night blindness and leopard complex spotting in the horse. *PLoS One*, 8(10), e78280.
- Bierman, A., Guthrie, A. J., and Harper, C. K. (2010). Lavender foal syndrome in Arabian horses is caused by a single-base deletion in the MYO5A gene. *Animal Genetics*, 41(s2), 199-201.
- Bowling, A. T., Ruvinsky A. (2000). *Genetics of colour variation. The Genetics of the Horse*, CABI, 512, ISBN 0851999255, 9780851999258
- Brooks, S. A., and Bailey, E. (2005). Exon skipping in the KIT gene causes a Sabino spotting pattern in horses. *Mammalian Genome*, 16(11), 893-902.
- Brooks, S. A., Gabreski, N., Miller, D., Brisbin, A., Brown, H. E., Streeter, C., Antczak, D. F. (2010). Whole-genome SNP association in the horse: identification of a deletion in myosin Va responsible for Lavender Foal Syndrome. *PLoS Genet*, 6(4), e1000909.
- Brunberg, E., Andersson, L., Cothran, G., Sandberg, K., Mikko, S., Lindgren, G. (2006). A missense mutation in PMEL17 is associated with the Silver coat color in the horse. *BMC genetics*, 7(1), 1.

- Castle, W. E. (1954). Coat color inheritance in horses and in other mammals. *Genetics*, 39(1), 35.
- Cook, D., Brooks, S., Bellone, R., and Bailey, E. (2008). Missense mutation in exon 2 of SLC36A1 responsible for champagne dilution in horses. *PLoS Genet*, 4(9), e1000195.
- Curik, I., Druml, T., Seltenhammer, M., Sundström, E., Pielberg, G. R., Andersson, L., Sölkner, J. (2013). Complex inheritance of melanoma and pigmentation of coat and skin in Grey horses. *PLoS Genet*, 9(2), e1003248.
- Depecker, M., Ségard, E., Cadoré, J. L. (2013). Phenotypic description of multiple congenital ocular anomalies in Comtois horses. *Equine Veterinary Education*, 25(10), 511-516.
- Fanelli, H. H. (2005). Coat colour dilution lethal ('lavender foal a'): syndrome tetany syndrome of Arabian foals. *Equine Veterinary Education*, 17(5), 260-263
- Fleury, C., Bérard, F., Leblond, A., Faure, C., Ganem, N., Thomas, L. (2000a). The Study of Cutaneous Melanomas in Camargue-Type Gray-Skinned Horses (2): Epidemiological Survey. *Pigment cell research*, 13(1), 47-51.
- Fleury, C., Bérard, F., Balme, B., Thomas, L. (2000b). The Study of Cutaneous Melanomas in Camargue-Type Gray-Skinned Horses (1): Clinical-Pathological Characterization. *Pigment Cell Research*, 13(1), 39-46.
- Futas, J., Vychodilova, L., Hofmanova, B., Vranova, M., Putnova, L., Muzik, J., Horin, P. (2012). Genomic analysis of resistance/susceptibility to melanoma in Old Kladruber greying horses. *Tissue antigens*, 79(4), 247-248.
- Gabreski, N. A., Haase, B., Armstrong, C. D., Distl, O., Brooks, S. A. (2012). Investigation of allele frequencies for Lavender foal syndrome in the horse. *Animal genetics*, 43(5), 650-650.
- Haase, B., Brooks, S. A., Schlumbaum, A., Azor, P. J., Bailey, E., Alaeddine, F., Leeb, T. (2007). Allelic heterogeneity at the equine KIT locus in dominant white (W) horses. *PLoS Genet*, 3(11), e195.

- Haase, B., Jude, R., Brooks, S. A., and Leeb, T. (2008). An equine chromosome 3 inversion is associated with the tobiano spotting pattern in German horse breeds. *Animal genetics*, 39(3), 306-309.
- Hearing, V. J., Tsukamoto, K. (1991). Enzymatic control of pigmentation in mammals. *The FASEB Journal*, 5(14), 2902-2909.
- Henner, J., Poncet, P. A., Aebi, L., Hagger, C., Stranzinger, G., Rieder, S. (2002). [Horse breeding: genetic tests for the coat colors chestnut, bay and black. Results from a preliminary study in the Swiss Freiberger horse breed]. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde*, 144(8), 405-412.
- Hintz, H. F., Van Vleck, L. D. (1979). Lethal dominant roan in horses. *Journal of Heredity*, 70(2), 145-146.
- Hofmanová, B., Vostrý, L., Majzlík, I., Vostrá-Vydrová, H. (2015). Characterization of greying, melanoma, and vitiligo quantitative inheritance in Old Kladruber horses. *Czech Journal of Animal Science*, 60(10), 443-451.
- Imsland, F., McGowan, K., Rubin, C. J., Henegar, C., Sundström, E., Berglund, J., Lindgren, G. (2016). Regulatory mutations in *TBX3* disrupt asymmetric hair pigmentation that underlies Dun camouflage color in horses. *Nature genetics*, 48(2), 152-158.
- Kaps, S., Spiess, B. M. (2010). Multiple congenital ocular abnormalities (MCOA) in Rocky Mountain Horses and Kentucky Mountain Saddle Horses in Europe. *Pferdeheilkunde*, 26(4), 1-5.
- Komáromy, A. M., Rowlan, J. S., La Croix, N. C., Mangan, B. G. (2011). Equine Multiple Congenital Ocular Anomalies (MCOA) syndrome in *PMEL17* (Silver) mutant ponies: five cases. *Veterinary ophthalmology*, 14(5), 313-320.
- L.D. Van Vleck, M. Davitt, Confirmation of a gene for dominant dilution of horse colors, *J. Heredity*, 68 (1977), pp. 280–282
- Lerner, A. B., Cage, G. W. (1973). Melanomas in horses. *The Yale journal of biology and medicine*, 46(5), 646.

- Lightbody, T. (2002). Foal with Overo lethal white syndrome born to a registered quarter horse mare. *The Canadian Veterinary Journal*, 43(9), 715.
- Ludwig, A., Pruvost, M., Reissmann, M., Benecke, N., Brockmann, G. A., Castaños, P., Slatkin, M. (2009). Coat color variation at the beginning of horse domestication. *Science*, 324(5926), 485-485.
- MacGillivray, K. C., Sweeney, R. W., Piero, F. D. (2002). Metastatic melanoma in horses. *Journal of veterinary internal medicine*, 16(4), 452-456.
- Magdesian, K. G., Williams, D. C., Aleman, M., LeCouteur, R. A., Madigan, J. E. (2009). Evaluation of deafness in American Paint Horses by phenotype, brainstem auditory-evoked responses, and endothelin receptor B genotype. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 235(10), 1204-1211.
- Mariat, D., Taourit, S., Guérin, G. (2003). A mutation in the MATP gene causes the cream coat colour in the horse. *Genetics Selection Evolution*, 35(1), 119.
- Marklund, S., Moller, M., Sandberg, K., Andersson, L. (1999). Close association between sequence polymorphism in the KIT gene and the roan coat color in horses. *Mammalian Genome*, 10(3), 283-288.
- Marklund, L., Moller, M. J., Sandberg, K., Andersson, L. (1996). A missense mutation in the gene for melanocyte-stimulating hormone receptor (MC1R) is associated with the chestnut coat color in horses. *Mammalian Genome*, 7(12), 895-899.
- Matthews Webb, A. A., Cullen, C. L. (2010). Coat color and coat color pattern-related neurologic and neuro-ophthalmic diseases. *The Canadian Veterinary Journal*, 51(6), 653.
- Mau, C., Poncet, P. A., Bucher, B., Stranzinger, G., Rieder, S. (2004). Genetic mapping of dominant white (W), a homozygous lethal condition in the horse (*Equus caballus*). *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 121(6), 374-383.
- McCabe, L., Griffin, L. D., Kinzer, A., Chandler, M., Beckwith, J. B., McCabe, E. R. (1990). Overo lethal white foal syndrome: equine model of aganglionic megacolon (Hirschsprung disease). *American journal of medical genetics*, 36(3), 336-340.

- Metallinos, D. L., Bowling, A. T., Rine, J. (1998). A missense mutation in the endothelin-B receptor gene is associated with Lethal White Foal Syndrome: an equine version of Hirschsprung disease. *Mammalian Genome*, 9(6), 426-431.
- Moore, J. S., Shaw, C., Shaw, E., Buechner-Maxwell, V., Scarratt, W. K., Crisman, M., Robertson, J. (2013). Melanoma in horses: Current perspectives. *Equine Veterinary Education*, 25(3), 144-151.
- Nunnery, C., Pickett, J. P., Zimmerman, K. L. (2005). Congenital stationary night blindness in a Thoroughbred and a Paso Fino. *Veterinary ophthalmology*, 8(6), 415-419.
- Oetting, W. S., King, R. A. (1999). Molecular basis of albinism: mutations and polymorphisms of pigmentation genes associated with albinism. *Human mutation*, 13(2), 99-115.
- Oosterlinck, M., Grebert, A., Gielen, I., Bosseler, L., Ducatelle, R., Gasthuys, F. (2015). Post mortem magnetic resonance imaging of multiple congenital ocular anomalies in a Comtois mare. *Equine Veterinary Education*, 27(5), 255-258.
- Page, P., Parker, R., Harper, C., Guthrie, A., Nesar, J. (2006). Clinical, clinicopathologic, postmortem examination findings and familial history of 3 Arabians with lavender foal syndrome. *Journal of veterinary internal medicine*, 20(6), 1491-1494.
- Pielberg, G. R., Golovko, A., Sundström, E., Curik, I., Lennartsson, J., Seltenhammer, M. H., Sandberg, K. (2008). A cis-acting regulatory mutation causes premature hair graying and susceptibility to melanoma in the horse. *Nature genetics*, 40(8), 1004-1009.
- Plummer, C. E., Ramsey, D. T. (2011). A survey of ocular abnormalities in miniature horses. *Veterinary ophthalmology*, 14(4), 239-243.
- Premont, J. E., Andersson, L., Grauwels, M. (2013). Multiple congenital ocular anomalies syndrome in a family of Shetland and Deutsches Classic ponies in Belgium. *Equine Veterinary Education*, 25(11), 550-555.
- Protas, M. E., Hersey, C., Kochanek, D., Zhou, Y., Wilkens, H., Jeffery, W. R., Tabin, C. J. (2006). Genetic analysis of cavefish reveals molecular convergence in the evolution of albinism. *Nature genetics*, 38(1), 107-111.

- Ramsey, D. T., Ewart, S. L., Render, J. A., Cook, C. S., Latimer, C. A. (1999). Congenital ocular abnormalities of Rocky Mountain horses. *Vet Ophthalmol*, 2(1), 47-59.
- Rieder, S., Stricker, C. H., Joerg, H., Dummer, R., Stranzinger, G. (2000). A comparative genetic approach for the investigation of ageing grey horse melanoma. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 117(2), 73-82.
- Rieder, S., Taourit, S., Mariat, D., Langlois, B., Guérin, G. (2001). Mutations in the agouti (ASIP), the extension (MC1R), and the brown (TYRP1) loci and their association to coat color phenotypes in horses (*Equus caballus*). *Mammalian Genome*, 12(6), 450-455.
- Sandmeyer, L. S., Breaux, C. B., Archer, S., Grahn, B. H. (2007). Clinical and electroretinographic characteristics of congenital stationary night blindness in the Appaloosa and the association with the leopard complex. *Veterinary ophthalmology*, 10(6), 368-375.
- Sandmeyer, L. S., Bellone, R. R., Archer, S., Bauer, B. S., Nelson, J., Forsyth, G., Grahn, B. H. (2012). Congenital stationary night blindness is associated with the leopard complex in the miniature horse. *Veterinary ophthalmology*, 15(1), 18-22
- Santschi, E. M., Vrotsos, P. D., Purdy, A. K., Mickelson, J. R. (2001). Incidence of the endothelin receptor B mutation that causes lethal white foal syndrome in white-patterned horses. *American journal of veterinary research*, 62(1), 97-103.
- Ségard, E. M., Depecker, M. C., Lang, J., Gemperli, A., Cadoré, J. L. (2013). Ultrasonographic features of PMEL17 (Silver) mutant gene-associated multiple congenital ocular anomalies (MCOA) in Comtois and Rocky Mountain horses. *Veterinary ophthalmology*, 16(6), 429-435.
- Seltenhammer, M. H., Simhofer, H., Scherzer, S., Zechner, P., Curik, I., Sölkner, J., Eisenmenger, E. (2003). Equine melanoma in a population of 296 grey Lipizzaner horses. *Equine veterinary journal*, 35(2), 153-157.
- SPONENBERG, D.P. *Equine Color Genetics*. 2nd ed. Iowa State University Press, Blackwell Publishing, 2003. 215 p. ISBN 0-8138-0759-X

- Stearns, F. W. (2010). One hundred years of pleiotropy: a retrospective. *Genetics*, 186(3), 767-773.
- Stefaniuk-Szmukier, M., Ropka-Molik, K., Piórkowska, K., Szmatoła, T., Długosz, B., Pisarczyk, W., Bugno-Poniewierska, M. (2017). Variation in TBX3 Gene Region in Dun Coat Color Polish Konik Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 49, 60-62.
- Tarr, C. J., Thompson, P. N., Guthrie, A. J., Harper, C. K. (2014). The carrier prevalence of severe combined immunodeficiency, lavender foal syndrome and cerebellar abiotrophy in Arabian horses in South Africa. *Equine veterinary journal*, 46(4), 512-514.
- Terry, R. B., Archer, S., Brooks, S., Bernoco, D., Bailey, E. (2004). Assignment of the appaloosa coat colour gene (LP) to equine chromosome 1. *Animal genetics*, 35(2), 134-137
- Thiruvankadan, A. K., Kandasamy, N., Panneerselvam, S. (2008). Coat colour inheritance in horses. *Livestock Science*, 117(2), 109-129.
- Witzel, D. A., Smith, E. L., Wilson, R. D., Aguirre, G. D. (1978). Congenital stationary night blindness: an animal model. *Investigative ophthalmology & visual science*, 17(8), 788-795.
- Yan, G. C., Croaker, D., Zhang, A. L., Manglick, P., Cartmill, T., Cass, D. (1998). A dinucleotide mutation in the endothelin-B receptor gene is associated with lethal white foal syndrome (LWFS); a horse variant of Hirschsprung disease (HSCR). *Human Molecular Genetics*, 7(6), 1047-1052.