

# **Inverkan av den genetiska defekten Complex Vertebral Malformation på fruktsamheten hos SLB**

**Anna Persson**

Handledare: Britt Berglund  
Institutionen för husdjursgenetik

Bitr. handledare: Elisabeth Persson  
Institutionen för anatomi och histologi

Bitr. handledare: Hans Stålhammar  
Svensk Avel

Examensarbete 2003:34  
Veterinärprogrammet  
Veterinärmedicinska fakulteten  
SLU  
ISSN 1650-7045  
Uppsala 2003

## Innehåll

<b>Innehållsförteckning</b>	<b>2</b>
<b>Inledning</b>	<b>3</b>
<b>Embryologi</b>	<b>3</b>
Normal embryonalutveckling	3
<i>Från zygot till blastocyst</i>	3
<i>Gastrulan</i>	5
<i>Neurulan</i>	6
<i>Kotor och revben</i>	7
<i>Hjärtat</i>	8
Strukturella missbildningar	8
<i>Missbildningar i kotor</i>	8
<i>Missbildningar i hjärtat förekommande vid CVM</i>	9
<i>Arthrogrypos hos nöt</i>	10
<b>Rapportering av missbildningar</b>	<b>10</b>
Den svenska rapporteringen av missbildningar	10
Frågeformuläret	11
Förekommande missbildningar	11
Förbättring av systemet	12
<b>Complex Vertebral Malformation</b>	<b>12</b>
Missbildningarna	12
Nedärvning av CVM och påverkan på fruktsamheten	13
Historik	14
Bekämpning och hantering av CVM i olika länder	14
<b>Egen undersökning</b>	<b>15</b>
Förklaring av begrepp som används i studien	15
Material och metod	16
<i>Material</i>	16
<i>Metod</i>	17
Resultat	17
Diskussion	19
Slutsatser	22
<b>Summary</b>	<b>23</b>
<b>Referenser</b>	<b>24</b>

## Inledning

I oktober 1999 upptäcktes i Danmark att ett ökat antal kalvar inom Holsteinrasen var missbildade. I början av år 2000 undersöktes problemet närmare (Agerholm et al 2001) och det upptäcktes att flera kalvar led av liknande missbildningar. Dessa bestod av olika typer av defekter i framför allt hals- och bröstkotor, i hjärtat samt felställningar i extremiteterna. Kalvarna var dessutom födda för tidigt samt hade i genomsnitt en lägre födelsevikt än förväntat. Defekten fick namnet Complex Vertebral Malformation (CVM).

BVDV- och Neosporainfektion uteslöts som orsak då endast en kalv hade antikroppar mot N. Caninum och endast den enda levande födda hade antikroppar mot BVDV, som den troligen fått via råmjölken. Övriga kalvar hade negativa testresultat. Efter ytterligare undersökningar konstaterades att kalvarnas gemensamma faktor var deras härstamning. Eftersom alla föräldradjur var normala samt tidigare fått normal avkomma och pga att tjur- och kvigkalvar drabbades i samma utsträckning, drogs slutsatsen att det måste vara en autosomal, dvs ej könsbunden, recessiv defekt som orsakat problemet.

Det största problemet med CVM är dock inte de missbildade kalvar som föds nästan fullgångna, utan det stora antal foster som aborteras. Denna förlust av dräktigheter leder till den största ekonomiska konsekvensen för lantbrukaren genom omlöpningar och ofrivillig utslagning av kor pga förlängda kalvningsintervall.

Syftet med detta examensarbete är att på svenskt material undersöka om det finns en skillnad i non-return resultat (icke omlöparprocent) mellan SLB-tjurar som bär på den defekta gen som i dubbel uppsättning leder till CVM och SLB-tjurar som ej är bärare av defekten. Vidare ska undersökas om det är någon skillnad i dotterfruktsamhet mellan dessa två tjurgrupper. Förutom detta ska det undersökas om man genom att studera en tjurs non-return resultat kan förutsäga om han är bärare av en genetisk defekt som påverkar hans avkommas överlevnad under fosterstadiet.

Inledningsvis ges en beskrivning av den normala tidiga embryonalutvecklingen och bland annat ges exempel på defekter i genregleringen som leder till strukturella missbildningar i framför allt ryggkotpelaren. Detta för att ge ett underlag för vilka utvecklingssteg som kan tänkas störas vid ett missbildningskomplex som CVM. Dessutom ges en beskrivning av det svenska rapporteringssystemet av missbildningar.

## Embryologi

### Normal embryonalutveckling

#### *Från zygot till blastocyst*

Vid befruktningen bildas det första stadiet till en ny individ, en zygot, med hälften av sitt genom från modern och hälften från fadern, se figur 1 a - f.

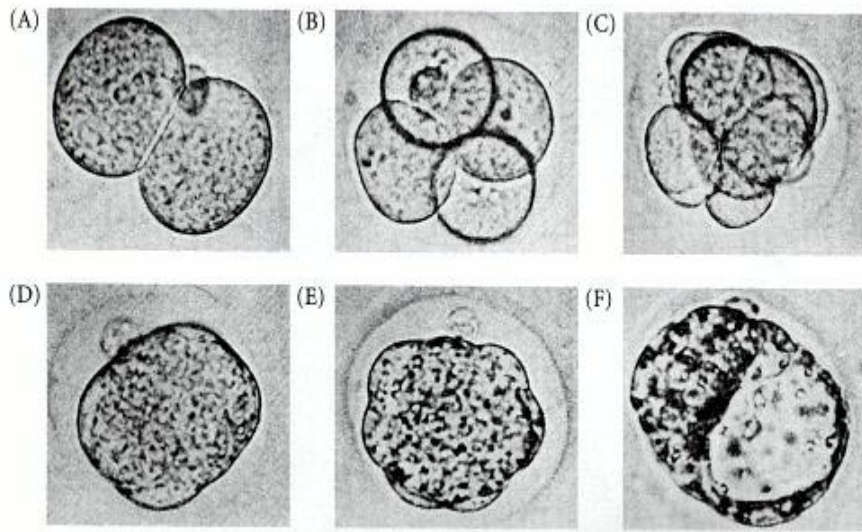


Fig. 1 a-f. Klyvning av en zygot till A) 2-cell-, B) 4-cell-, C) 8-cellstadium, D) förtätat 8-cellstadium, E) morula och F) blastocyst

Bilden hämtad ur *Developmental Biology*, Gilbert. [www.devbio.com](http://www.devbio.com)

Zygoten är täckt av ett skyddande glykoproteinskikt, zona pellucida. Genom klyvning kommer den första zygoten att dela sig i flera små celler så kallade blastomerer. Blastomererna kommer att förtätas genom cellkontakter och då antalet blastomerer uppgår till 16-64 stycken har en morula bildats (Gilbert, 1994; Sadler, 2000). Under morulastadiet uppdelas cellerna i ett yttre enkelt cellager, trofoblast, och en inre cellmassa, embryoblast. Trofoblastcellerna kommer att bilda vissa fosterhinnor och embryoblasten kommer att bilda den nya individen. Då trofoblastcellerna börjar utsöndra vätska bildas ett vätskefyllt hålrum, blastocoelen. Blastocoelen kommer att utgöra ena polen av det nya utvecklingsstadiet, blastocyst och i den andra polen finns den inre cellmassan. För att blastocysten ska kunna öka ytterligare i storlek krävs att trofoblastcellerna är polariserade. I de polariserade trofoblastcellerna finns bla Na/K-ATPas som aktivt transporterar in Natrium-joner till blastocoelen. Jonerna drar med sig vätska från livmodersekreteret och blastocysten ökar i storlek (Gilbert, 1994; Betts et al 1997). Bildandet av blastocysten sker inom 7 - 8 dagar efter befruktningen (Noden & de Lahunta, 1985). Härefter lyserar blastocysten ett hål i zona pellucida och blastocysten kläcks (Gilbert, 1994). Efter att detta har skett har embryot möjlighet att tillväxa ytterligare i storlek. Storleksökningen beror framför allt på att vätskemängden i blastocoelen ökar. För djurslaget nöt kommer denna tillväxt att uppgå till 1 cm per timme på längden, då blastocysten elongeras. Blastocysten fäster till livmoderväggen tolv dagar efter befruktningen (Noakes, Parkinson & England, 2001). För tidpunkter för de olika utvecklingsstadierna se tabell 1.

Den inre cellmassan kommer att plattas ut och bilda en embryonalplatta från vilken det frigörs hypoblastceller som växer ut innanför trofoblasten och kommer att linjera denna. Embryonalplattan utgörs av så kallade epiblastceller. Hypoblastcellerna kommer bland annat att bilda epitelet i gulesäcken. Hos de flesta

tamdjur degenererar de trofoblastceller, s.k. Rauber's celler, som finns ovanför embryonalplattan så att denna kommer att utgöra blastocystens yta.

Tabell 1 Tidpunkter för viktiga händelser i fosterutvecklingen hos nötkreatur. Modifierad efter Latshaw (1987) med tillägg från Noakes, Parkinson & England (2001) och från Rüsse & Sinowatz (1991).

Stadium	Tidpunkt (dagar efter befruktning)
Morula	4 – 6
Blastocyst	7 – 8
Blastocysten kläcks	9 – 10
Fäster till livmodern	12
Primitivstrimma	15
Notochord	18
Neuralplatta	< 19
Neuralveck	19
Somiter	< 20
Hjärtrör	20
Transport av blod	22
Främre extremitetsanlag	24
Bakre extremitetsanlag	26
Embryonalperiodens slut	30 – 40
Total dräktighetslängd	285

### *Gastrulan*

I början av den tredje dräktighetsveckan bildas gastrulan, dvs embryot börjar delas upp i de tre olika groddlagren. Detta sker genom att primitivstrimman och primitivknutan bildas bland epiblastceller i embryonalplattans kaudala del, se figur 2.

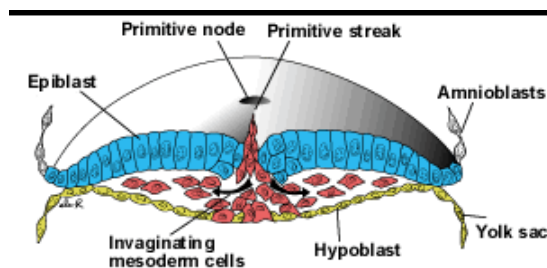


Fig 2. Gastrulation. På embryots ovansida syns primitivknutan och primitivstrimman varifrån mesodermceller bildas, invaginerar och placeras mellan epiblast och hypoblast. Från: [http://www.med.unc.edu/embryo\\_images/](http://www.med.unc.edu/embryo_images/)

Från dessa celler kommer mesoderm inkluderande notochord och blivande somiter, intermediärt och lateralt mesoderm att bildas. Hos bl a nöt sprids det laterala mesoderm snabbt eftersom blastocysten blir väldigt lång. Det laterala mesoderm kommer att delas i två lager, det somatiska (parietala) och det splanchniska (viscerala) mesoderm. Ektoderm bildas av epiblastceller som finns på ytan av embryonalplattan då primitivstrimman blir inaktiv. Hypoblasten byter namn och kommer att kallas för endoderm efter gastrulationen.

### *Neurulan*

I neurulastadiet bildas det centrala nervsystemet, de första stadierna av mag-tarmkanal och hjärta samt det segmenterade paraxiala mesoderm. Med paraxialt menas att det är beläget vid sidan av kropp saxeln, dvs neuralröret och notochorden. Embryots kropp delas nu mer specifikt upp i de tre groddlagren till vilka grunden lades för under gastrulastadiet.

Det första som sker under neurulastadiet är att ytektoderm förtjockas och neuralplattan bildas, detta sker dorsalt om notochorden. På de yttre kanterna av neuralplattan bildas upphöjningar, neuralveckan. Detta sker samtidigt med att neuralfåran bildas mitt i neuralplattan. Då neuralveckan höjer sig över neuralfåran kommer de så småningom att mötas i den dorsala mittlinjen och där växa samman så att ett slutet neuralrör bildas (figur 3 a och b).

Som en följd av att embryot växer snabbare dorsalt och kranialt kommer det att slutas ventralt. Detta genom att de kraniala, kaudala och laterala kanterna böjs ihop. Där dessa veck möts kommer navelsträngen att löpa. I och med denna slutning kommer endoderm att hamna inuti embryot och bland annat utgöra den primitiva mag-tarmkanalen.

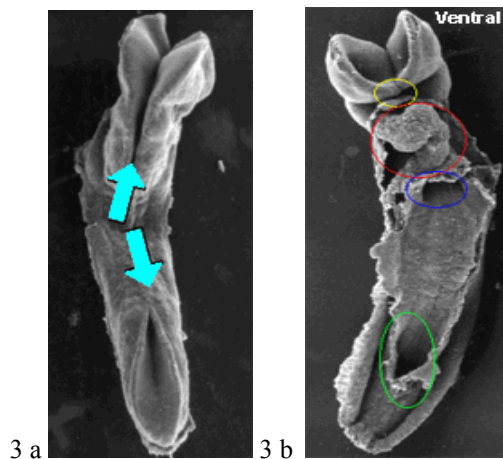


Fig. 3 a-b. a) Slutning av neuralröret med början i embryots nackregion och som fortsätter kranialt och kaudalt. b) Slutning av embryots ventrala sida. Inringat är den primitiva munnen, hjärtat, de främre och bakre tarmöppningarna.

Från: [http://www.med.unc.edu/embryo\\_images/](http://www.med.unc.edu/embryo_images/)

### *Kotor och revben*

Kotorna, revbenen och bålens skelettmuskulatur bildas från somiter med början under det neurala stadiet (figur 4). Dessa bildas av det paraxiala mesodermet även kallat presomitiskt mesoderm (PSM). Detta är beläget dorsolateralt om notochorden och lateralt om neuralröret. Av det mest kraniala presomitiska mesodermet kommer endast somitomerer att bildas, dvs separata somiter bildas ej. Dessa kommer att ge upphov till skallens ben (Noden & de Lahunta, 1985). Somiterna bildas parvis på vardera sidan av neuralröret. Bildandet är uppdelat i olika faser, periodicitet, segmentering, epitelisering och differentiering (Tajbakhsh & Spörle, 1998). I och med dessa processer kommer somiten att delas upp i dermatom, myotom och sclerotom. Dermatomet kommer att bilda underhud, myotomet är ursprung för skelettmuskulaturen och sclerotomet bildar kotor och revben (Noden & de Lahunta, 1985).

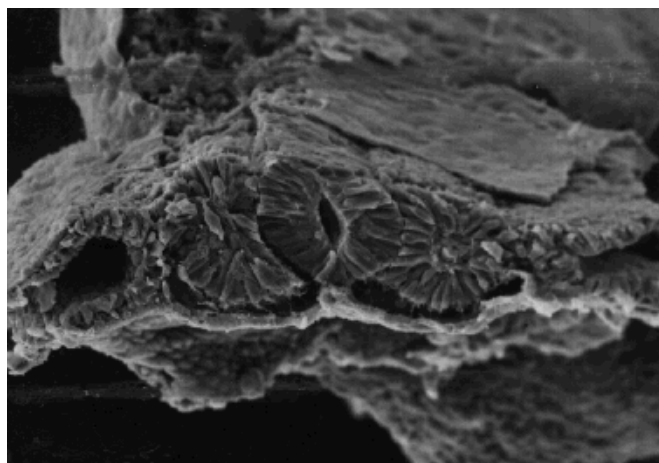


Fig. 4. Det slutna neuralröret syns centralt i bilden. På vardera sidan syns de blivande somiterna med en stjälk, det intermediära mesodermet, som sedan delas i två blad, det laterala mesodermet.

Från: [http://www.med.unc.edu/embryo\\_images/](http://www.med.unc.edu/embryo_images/)

Somitogenesens olika faser styrs av ett flertal gener. Detta tros börja med att generna *c-hairy 1* och *lunatic fringe* uttrycks i cykliska vågor i PSM. År 1999 var funktionen av *c-hairy 1* inte klart fastlagd, det har dock föreslagits att den driver *lunatic fringe* (Tajbakhsh & Spörle, 1998; Aulehla & Johnson, 1999). Aulehla och Johnson föreslog (1999) att *lunatic fringe* kan fungera som en länk till Notch-Delta vägen och driva den till ett periodiskt uttryck (Nacke et al 2000). Detta periodiska uttryck ger cellerna i somiten en kranial och en kaudal identitet. Notch-Delta vägen utgörs av receptorn Notch och dess ligand *Drosophila delta like-1* (*Dll1*). Förutom *Dll1* finns ett flertal andra ligander som kan binda till Notch-receptorn. Dessa är tex *Dll-3* och *Jagged1/Serrate1*. Uppdelningen av somiternas celler i en kranial och en kaudal del är nödvändig för att det ska bildas gränser mellan somiterna och för att neuroner ska kunna migrera genom de kraniala delarna av somiterna (Nacke et al 2000).

Differentiering av somiterna sker under inverkan av ett flertal gener. Uttrycket av Sonic Hedgehog (Shh) från notochorden och botten av neuralröret kommer att leda till att sclerotom bildas där koncentrationen av Shh är som högst (Gilbert, [www.devbio.com](http://www.devbio.com), 2002). Detta sker på den undre och inre sidan av somiten genom att cellerna blir mesenchymala, dvs de blir fria, vandrande celler. Genom tillväxt av denna cellpopulation samt tillväxt av ryggmärgen och notochorden kommer den ventrala delen av ryggmärgen och notochorden att omges av sclerotomalt mesenchym (Noden & de Lahunta 1985). De sclerotomala cellerna kommer att uttrycka Pax 1 som leder till att cellerna differentieras till chondrocyter, broskceller, (Gilbert, [www.devbio.com](http://www.devbio.com), 2002). Cellerna kommer att grupperas och bilda en kranial och en kaudal del av varje sclerotom. Eftersom cellgrupperna tillväxer olika snabbt kommer den kaudala delen av ett sclerotom att fusera med den kraniala delen av bakomliggande sclerotom och därmed bilda en kotta. Fusionen av två olika sclerotom är orsaken till att spinalnerv utgår mellan kotorna samt att blodkärl löper i en kanal genom kotkroppen. Medan de blivande kotorna broskvandlas kommer notochorden att endast finnas kvar mellan varje kotkropp. Notochorden kommer att bilda den mjuka kärnan, nucleus pulposus, i diskerna mellan kotorna. Övrigt material i diskerna utgörs av sclerotomalt mesenchym.

Lateralt på de sclerotom som bildar de thorakala kotorna differentieras celler till att bilda revbenen. De första revbenen växer i ventral riktning och kommer att få kontakt med två longitudinella cellstråk av somatiskt mesoderm. Dessa cellstråk kommer efter att de vuxit samman i mittlinjen att utgöra bröstbenet (Noden & de Lahunta, 1985).

### *Hjärtat*

Hjärtat är det första organ som funktionellt differentieras. De celler som ska bli till hjärtat har under den tidiga embryonalutvecklingen varit belägna mest kranialt i embryot. När den primitiva mag-tarmkanalen sluts kommer små vesikler av kardiogent mesoderm att föras till den ventrala mittlinjen, smälta samman och bilda ett hjärtrör. Detta består av sinus venosus, förmaket, bulboventrikeln och truncus arteriosus. De första kontraktionerna har redan ägt rum då hjärtröret sluts och då det bovina embryot är 22 dagar gammalt börjar blod att transporteras till förstadiet av det centrala nervsystemet, den blivande levern och till fosterhinnan allantois (Rüsse & Sinowatz, 1991, Noden & de Lahunta, 1985).

Genom ytterligare komplexa moment kommer hjärtröret att krökas och indelas i fyra rum, de två förmaken och de två kamrarna. Detta sker under den fjärde utvecklingsveckan hos de flesta husdjuren (Noden & de Lahunta, 1985). Vidare kommer truncus arteriosus att delas i två kärl av en spiralformad vägg och bilda lungartären och aorta.

## **Strukturella missbildningar**

### *Missbildningar i kotor*

Kotmissbildningar upptäcks ofta redan vid födelsen eftersom de felaktiga kotorna utövar tryck på ryggmärgen med neurologiska bortfallssymptom som följd. Även



om detta inte visar sig direkt brukar symptomen komma inom några månader då djuret växer och defekten i ryggraden ej klarar av att anpassa sig så att problem ej uppstår.

Den vanligaste orsaken till missbildningar i kotorna beror på fel vid forandret och tillväxten av sclerotomala vävnader. Dessa uppstår oftast redan då somiterna segmenteras, ungefär 20 dagar efter befruktningen, och ger sekundärt även defekter i skelett, muskulatur och perifera nerver (Noden & de Lahunta 1985).

Man har på mus sett att en inaktivering av liganden Dll3 leder till allvarliga segmenteringsdefekter med hemivertebrae, sammanvuxna kotor, frånvaro av kotor samt fuserade revben. Detta jämförs med det s.k. Alagille syndromet på människa som beror på en defekt i liganden Jagged1/Serrate1 som även den tillhör Notchvägen (Nacke et al, 2000). Personer med Alagille syndromet uppvisar bland annat missbildningar i kotpelaren, hjärtat, levern, ögon och njurar (sammanfattat av Kirby, 2002). Nacke och medarbetare (2000) visade att rv-genen (rib-vertebrae) på mus leder till en förlängning av det presomitiska mesodermet och en störning i den kraniala/kaudala polariseringen av somiterna genom att generna Pax1 och Mox1 uttrycks felaktigt. De missbildningar mössen drabbades av var hemivertebrae, sammanvuxna kotor, extra samt sammanvuxna revben. De uppvisade även missbildningar i urin- och reproduktionsorganen. I undersökningen visades även att rv-genen interagerar med Notch-Delta vägen. Detta visades genom att korsa rv-homozygota möss med möss som hade en inaktiverad Dll1-gen. Dessa möss drabbades av värre missbildningar än de som bara var homozygota för rv-genen.

#### *Missbildningar i hjärtat förekommande vid CVM*

Defekter i skiljeväggen mellan hjärtats kammare kallas också för ventrikulära septumdefekter (VSD). Dessa orsakas av en felaktig tillväxt av de vävnader som ska smälta samman och bilda kammarskiljeväggen. Den felaktiga tillväxten kommer att ge ett hål i skiljeväggen som syresatt blod kan transporteras genom. Beroende på hålets storlek kommer det att få olika följder för de drabbade. Hos nötkreatur är en liten VSD en vanlig defekt som hittas som bifynd vid obduktioner (Noden & de Lahunta, 1985).

Högerställd aorta, dvs att aorta delvis utgår från höger kammare istället för vänster orsakas även det av en felaktig slutning av kammarskiljeväggen. Om denna skiljevägg placeras något mer till höger och mer ventralt blir öppningen till lungartären mindre och öppningen till aorta större. Den större öppningen för aorta kommer att vara belägen i både höger och vänster kammare (Noden & de Lahunta, 1985).

Dessa två fel är båda orsaken till att höger kammarvägg förtjockas. Detta eftersom vänster kammare normalt har större kontraktionskraft för att kunna pumpa blodet runt hela det stora kretsloppet. Vid ett hål i kammarskiljeväggen förs blod in i höger kammare som i sin tur måste arbeta hårdare för att orka pumpa den ökade blodvolymen. Höger kammarvägg kommer därför att öka i muskelmassa.

En transposition av aorta och lungartären beror på att den spiralformade skiljevägg som delar in truncus arteriosus i två kärl ej växer i en spiral. Denna missbildning är dödlig vid födelsen om det inte finns en VSD eftersom blodet i så fall hindras från att nå lungorna för syresättning (Noden & de Lahunta 1985).

### *Arthrogypos hos nöt*

Arthrogypos innebär att lederna är permanent fixerade i böjd ställning. Termen brukar dock användas för tillstånd då djur redan från födelsen inte kan röra sina leder pga senkontrakturer eller deformerade leder. Den kan även kallas Congenital Articular Rigidity eftersom det då inte anges om lederna är böjda eller sträckta.

Generellt orsakas arthrogypos av att fostret rör sig för lite i livmodern. Detta kan bero på en missbildning av ryggraden, virusinfektion med tex Akabane- eller Bluetonguevirus, eller giftiga plantor som till exempel lupiner som innehåller anagrynine som tros ge en kontraktion av uterus så att fostret ej får plats att röra sig (Thomson's Special Veterinary Pathology, 1995)

Arthrogypos ses ofta tillsammans med scolios, torticollis dvs vriden hals och gomspalt. Ett ärftligt exempel på arthrogypos hos nötkreatur är ett syndrom på Charolais som inkluderar arthrogypos och gomspalt (Russel et al 1985, Thomson's Special Veterinary Pathology 1995, Radostits Veterinary Medicine 2000).

Vid missbildningar i det centrala nervsystemet och ryggraden är ofta även senor, ben, leder och ledband missbildade beroende på att somiterna har uppdelats felaktigt. Ett exempel är att senornas infästningar i relation till leden kan vara felaktig.

## **Rapportering av missbildningar**

### **Den svenska rapporteringen av missbildningar**

Bakgrunden till varför missbildningar rapporteras är för att undvika att semintjurar med anlag för olika ärftliga defekter används i aveln, se Djurskyddslagen (1988:534, §12, andra stycket). Missbildningar hos nötkreatur har en längre tid rapporterats in med kod 3 till Kokontrollen för mjölkkor och med kod 10 till Kött Avel Produktion (KAP) (Olsson et al 2001). Denna rapportering har följts av att personal vid husdjursföreningar frågat djurägaren om vilken typ av missbildning det varit fråga om vid senare besök i besättningen. Eftersom denna fråga lätt kan glömmas bort i det dagliga arbetet har en ny rutin införts för att rapportera in vilken typ av missbildning djuret varit drabbat av. Det ökande antalet djurägarinseminationer har även lett till ett minskat antal besök på gårdarna varför det funnits ett behov av ett förändrat rapporteringssystem.

Den första september 2001 togs detta nya rapporteringssystem för missbildningar hos nötkreatur i bruk. Det innebär att alla djurägare som rapporterar in kod 3 i Kokontrollen eller kod 10 i KAP automatiskt kommer att få ett uppföljande frågeformulär från Svensk Mjolk. Detta formulär är utarbetat av Svensk Mjolk i samarbete med Svensk Avel och Skånesemin. Formuläret ska fyllas i snarast möjligt och returneras till Svensk Mjolk som en gång per månad sammanställer resultaten. Rapporteringarna sorteras per tjur och anger totalt antal kalvningar och antal kalvar som är rapporterade missbildade. Tjurar som haft ett visst antal olika, eller två fall av liknande missbildningar hos sin avkomma hamnar på en observationslista. Detta innebär att då antal fall av missbildningar ses öka i

frekvens hos en tjurs avkomma ökas bevakningen på denna tjur genom att ta direktkontakt med berörda djurägare och eventuellt med obduktioner av drabbad avkomma.

## Frågeformuläret

På frågeformuläret anges föreningsnummer, besättningsnummer, ägarens namn och telefonnummer, djurets härstamning, dvs moder och fader, djurets kön samt kalvnings/kastningsdatum. Djurägaren får välja mellan sex olika typer av defekter som svarsalternativ. Veterinär/husdjurstekniker har ytterligare fyra alternativ att välja mellan. De diagnoser som djurägaren kan välja mellan är B 01–B 06, varav endast en får anges.

- B01. *Rörelsestörningar och missbildningar med symptom tydande på störning i det centrala nervsystemet.* Syn- och ögonfel räknas till denna grupp. Exempel på defekter är balansstörningar och förlamningstillstånd.
- B02. *Saknade eller övertaliga kroppsdelar.* Tex avsaknad av ben eller svans, extra ben eller sammanvuxna klövar.
- B03. *Icke slutna kroppshålor.* Exempelvis ut- och invänd kalv, gomspalt eller bräck.
- B04. *Oproportionerliga kroppsformer eller konturstörningar.* Exempel på missbildningar som faller under denna kategori är bulldogsutseende, dvärgväxt, missbildat huvud, platt eller vriden nos, stela/krokiga leder, sned rygg eller avvikande muskulatur. CVM skulle falla in under denna kategori eller under C09.
- B05. *Huddefekter.* Tex hårlös kalv eller kalv med ofullständig behåring.
- B06. *Övrigt*

Till detta kommer de fyra alternativ på defekter som kan upptäckas senare i djurets liv och som rapporteras av veterinär eller husdjurstekniker.

- C07. *Upptäckt i samband med seminering, betäckning, dräktighetsundersökning.* Tex missbildade eller underutvecklade könsorgan samt stenfoster.
- C08. *Upptäckt i samband med inmjölkning/digivning.* Exempelvis en tät spene hos kviga.
- C09. *Upptäckt vid särskild undersökning, tex kromosomdefekter som BLAD, CVM, bulldog eller mulföt.*
- C10. *Övrigt.*

## Förekommande missbildningar

Under det första året som systemet har varit i bruk har 600 missbildade kött- och mjölkkraskalvar inrapporterats, av dessa har dock endast 60 % förtydligats med det nya formuläret (Olsson, 2002).

I Sverige har förekomsten av missbildningar hos nöt varit 0,1 % en längre tid, vilket internationellt sett är en låg siffra (Olsson et al, 2001). Enligt Rüsse och Sinowatz (1991) beror ungefär 10 % av missbildningarna hos nötkreatur på

genetiska defekter. Under kontrollåret 2001-2002 rapporterades följande kategori B koder in (figur 5). De vanligast förekommande missbildningarna inom kategori C var under 2001-2002 Free Martins (C 07) och täta spenar (C 08) hos inkalvade kvigor (personligt meddelande från Olsson, 2002).

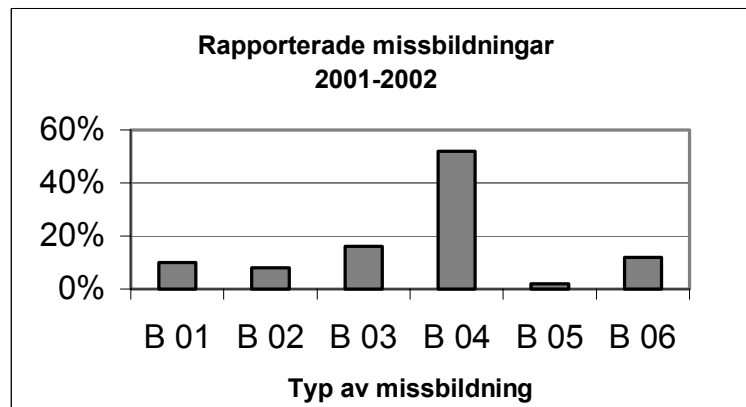


Fig. 5. Fördelning av missbildningar rapporterade till kokontrollen och KAP för svenska kött- och mjölkkraser från september 2001–september 2002. Rapporter från 360 kalvar ingår. B 01 Rörelsestörningar och defekter i CNS, B 02 Saknade eller övertaliga kroppsdelar, B 03 Icke slutna kroppshålor, B 04 Oproportionerliga kroppsformer, B 05 Huddefekter, B 06 Övrigt.

Svensk Mjolk, 2002

### Förbättring av systemet

Då svarsfrekvensen endast var 60 % under det första året tillkom en funktion i september 2002 (Olsson, 2002). Denna innebär att om formuläret ej returnerats till Svensk Mjolk inom en månad, skrivs en dubblett automatiskt ut. Denna dubblett skickas tillsammans med en lista över besättningar med obesvarade formulär till den lokala husdjursföreningen. Härifrån tar därefter veterinär eller övrig personal med sig formuläret ut till besättningen då de ska dit på annat besök. Formuläret fylls i och returneras till Svensk Mjolk.

## Complex Vertebral Malformation

### Missbildningarna

I en dansk undersökning (Agerholm et al 2001) obducerades 18 holsteinkalvar varav 17 var danska och den artonde var en holländsk embryoöverförd kalv. Samtliga kalvar var födda för tidigt, vanligen mellan dag 250 och 285. (280 dagar räknas dock som normal dräktighetslängd för SLB.) Kalvarna hade även en lägre födelsevikt än vad normalt utvecklade kalvar har vid motsvarande ålder. Alla utom en var dödfödda och den levande avlivades en dag efter födelsen. Gemensamt för

kalvarna var att hals- och bröstdelarna av ryggraden var förkortade, genom ett flertal hemivertebrae (halva kotor), scolios samt sammanvuxna och missbildade kotor (Figur 6a och b). För övrigt var de övre och hos en del de mellersta, delarna av revbenen sammanvuxna och revbenen löpte ej parallellt pga kotornas missbildningsgrad. Ryggraden löpte genom kotkanalen utan att ha komprimerats.

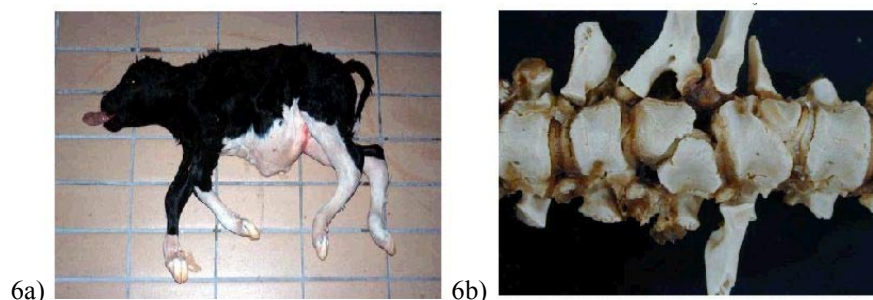


Fig. 6a). Kalv drabbad av CVM. Lägga märke till den kompakta kroppen och korta halsen samt något sneda ben. Fig. 6b) Exempel på missbildade kotor från kalv drabbad av CVM. Bilder från Svensk Avels hemsida, foto J.S. Agerholm

Symmetrisk arthrogrypos dvs ledkontrakturer eller stela leder sågs hos alla kalvar utom en. Detta drabbade framför allt frambenen där karpal- och kotleder var böjda och lateralt roterade, medan det var mindre tydligt i bakbenen. Efter att senorna skurits av kunde benen placeras i normalt läge. Det foster som ej uppvisade arthrogrypos hade aborterats efter 159 dagars dräktighet. Några fel på skelettet i extremiteterna eller i musklerna kunde ej konstateras hos något foster.

I 50 % av fallen fanns missbildningar i hjärtat. Dessa var defekter i skiljeväggen mellan kamrarna, aorta utgående från både höger och vänster kammare, transposition av aorta och truncus pulmonalis, dvs en omkastning av aorta och lungartären samt förtjockning av höger kammarvägg. Även andra mindre omfattande missbildningar som gomspalt, lågt ansatta öron och kort överkäke förekom hos några kalvar.

Diagnosen CVM kan endast ställas om kalven har kombinationen missbildade ryggkotor, symmetrisk arthrogrypos och lägre födelsevikt än vad som är normalt för fosteråldern (Agerholm et al., 2001).

Kalvar med andra typer av missbildningar i ryggkotpelaren eller i hjärtat föds vanligen levande. De typer av missbildningar som kalvar drabbade av CVM har kan inte förklara varför de flesta dör i livmodern eller är för tidigt födda (Agerholm et al., 2001)

### **Nedärvning av CVM och påverkan på fruktsamheten**

CVM är en defekt med autosomal recessiv nedärvning vilken är den vanligaste ärftlighetsgången för genetiska defekter hos husdjur (Nicholas, 1996). Detta innebär att det endast är de som är homozygota för den defekta genen som drabbas. Heterozygoterna är bärare av anlaget men upptäcks inte förrän de paras

med en annan bärare av anlaget då en kalv av fyra, dvs 25 % av kalvarna, kommer att få anlaget i dubbel uppsättning. Detta medför att defekten kan komma att få stor spridning i populationen innan den upptäcks. För nötkreatur känner man oftast endast till förekomsten av en genetisk defekt hos tjurarna. Detta innebär att om en ko, vars far är bärare av CVM, semineras med en CVM-positiv tjurs sperma kommer sannolikheten att avkomman drabbas av CVM att vara 12,5 %.

I Danmark gjorde Nielsen och medarbetare (2003) en studie för att undersöka inverkan av CVM på danska Holstein kor och framför allt undersöka om aborter kunde vara en orsak till att färre än 12,5 % CVM-kalvar föds. Enligt deras statistiska beräkningar har förekomsten av CVM i ett djurs härstamning en signifikant negativ inverkan på non-return resultat för 0-100 dagar och 0-150 dagar. Förutom detta fanns en negativ påverkan på frekvensen kalvningar 260–300 dagar efter en första insemination, antalet levande födda kalvar 260-300 dagar efter en första insemination samt intervallet mellan första inseminationen och kalvning. Den fertilitetsfaktor som ej påverkades av förekomsten av CVM i djurens härstamning var intervallet mellan kalvning och första insemination. Enligt deras beräkningar minskade sannolikheten att få en levande född kalv efter en första insemination med ungefär 11 % om både kalvens far och morfar är bärare av CVM.

Vidare visade de statistiska beräkningarna att vid 56 dagars dräktighet var 16 % av fostren som var homozygota för CVM döda, vid 150 dagar var 45 % döda och vid 260 – 300 dagar var 77 % av fostren döda. Enligt undersökningen minskade frekvensen kalvningar med en levande född kalv efter en första insemination med 93 % om de var homozygota för CVM. Det föds dock inga levande kalvar med CVM. Orsaken till att minskningen inte var 100 %, angavs bero på risken att djuret har felaktigt angiven härstamning. Denna risk har beräknats vara 2,5 % i Danmark.

## **Historik**

Efter studier av drabbade kalvars härstamning (Agerholm et al 2001, Agerholm et al 2000, Holstein Association USA, [www.holsteinusa.com](http://www.holsteinusa.com), 2001) kunde defekten ledas tillbaka till tjuren Carlin-M Ivanhoe Bell, född 1974. Längre trodde man att denne tjur var den förste, men efter att det gäntest som detekterar CVM vidareutvecklats har det även konstaterats att Bells far, Penstate Ivanhoe Star, var bärare av defekten (Landbrugets rådgivningscenter, 2001). Varifrån denne tjur fått defekten vet man ännu inte med säkerhet, men den rådande teorin är att den tros ha nedärvts på hans mors sida. Då det uppdagades att även Bells far var bärare insåg man att CVM kan ha en betydligt större spridning inom Holsteinrasen än vad man från början trodde, dvs att defekten även kan finnas i andra Holsteinlinjer än Bells.

## **Bekämpning och hantering av CVM i olika länder**

Det första som gjordes i Danmark för att begränsa spridningen av CVM var att ta reda på fäderna, morfäderna och morfarsfäderna till drabbade kalvar. Därefter räknade man rent sannolikhetsmässigt ut huruvida enskilda tjurar skulle kunna tänkas bära på defekten. Efter att ett första gäntest utvecklats (Nielsen, V. och medarbetare) började de första tjurarna testas. Resultaten var dock ej tillräckligt

säkra varför ett nytt test har utvecklats vid Forskningscentret i Foulum av Nielsen och medarbetare. Det första testet var markörbaserat men efter att den defekta genen identifierats används PCR-teknik sedan februari 2001 (Van Haeringen Laboratorium, <http://www.vhlgenetics.com/pages/cvmpag.html>, 2002). Ett markörbaserat test innebär att man testar för en kandidatgen för den aktuella defekten. Detta är dock ej lika säkert som ett PCR-test som kan användas när korrekt gensekvens har fastställts. PCR-testet som används för att testa för CVM kan med 99,9 % säkerhet avgöra om djuret är bärare eller ej.

Den svenska djurskyddslagen (1988:534, §12, andra stycket) förbjuder avel med sådan inriktning som kan medföra lidande för djuren eller påverka djurens naturliga beteende. Tack vare denna lagstiftning är det i Sverige ett lätt beslut att fatta då en grav genetisk defekt upptäcks, eftersom det då inte finns något annat val än att sluta använda de drabbade djuren. Detta tillämpades i fallet CVM, då alla tjurar som bar på defekten togs ur aveln. Kor som eventuellt är heterozygota för CVM finns kvar eftersom det ej kommer att födas drabbade kalvar då endast en av föräldrarna är heterozygot. Numera testas alla svenska låglandstjurkalvar för CVM då de köps in till Svensk Avel och Skånesemin. De som har ett positivt testresultat går till slakt. Även i Danmark har tjurar som bär på genen för CVM tagits ur aveln (Borchersen, 2001). I USA däremot, är de tjurar som bär på den defekta genen kvar i aveln men det är upp till djurägarna att se till att inseminationer mellan bärartjur och eventuell bärarko ej sker (Holstein Association USA, [www.holsteinusa.com](http://www.holsteinusa.com), 2001). Alla nyrekryterade tjurar i USA testas dock och bärarna av CVM slås ut (Sattler, 2001). De CVM-positiva tjurar som var insatta i avel i USA innan defekten upptäcktes anses ha så många positiva egenskaper att det inte är värt att slå ut dem pga en defekt. På sikt kommer det således inte att finnas avelstjurar i USA som bär på CVM. Det kommer dock att ta längre tid att i USA reducera genfrekvensen för denna defekt än vad det gör i Sverige.

## Egen undersökning

### Förklaring av begrepp som används i studien

**Non-return resultat (NR)** är ett mått på den andel kor som ej omsemineras inom vissa tidsintervall efter kalvning och kallas i Sverige även för icke omlöparprocent. Hos SLB i Sverige är den genomsnittliga icke omlöparprocenten vid 28 dagar 79,2 %, vid 56 dagar 68,2 % och vid 168 dagar ca 58 % (Svensk Mjolk, 2002 och personligt meddelande från Stålhammar, 2002). Den osäkerhet som finns i måttet inkluderar det faktum att en del djur som uppvisar brunst efter insemination slås ut pga tex låg produktion. Dessa kommer då felaktigt att tas med i gruppen som ej löpt om eftersom de ej rapporterats för ny insemination. Således blir det uppskattade non-return resultatet högre än den verkliga dräktighetsprocenten. I en studie av Oltenacu och Foote (1976) som citerades av Stålhammar (1994), visades att NR vid 150-180 dagar var 2,6 % högre än den verkliga dräktighetsprocenten. Denna överskattning minskar med tiden och är således högst vid 28 d NR då den första brunsten från en omlöparko kan ha missats. Vinson (1982) som citerades av Stålhammar (1994) ansåg att NR inte är ett bra mått på befruktning eftersom det

endast är en indikation på dräktighet. Något bättre mått har dock inte arbetats fram varför NR fortsätter att användas (Stålhammar, 1994). Non-return resultaten används framför allt på tjurstationerna för att få ett tidigt mått på en tjurs fruktsamhet (Gustafsson, 1997).

De non-return resultat som används i den här studien är avelsvärden i form av **relativtal**. Ett relativtal på 100 är medel för den aktuella rasen beräknat på upp till de fem senaste årgångarna av avkommebedömda tjurar (Eriksson, 1998). Ett högt relativtal betyder att tjuren är bättre än medel för denna egenskap och ett lågt betyder att tjuren är sämre än medel. För att veta hur mycket bättre eller sämre och var i tjurgruppen den aktuella tjuren placerar sig måste man veta avelsvärdets standardavvikelse eller spridning. För NR är den relativa spridningen standardiserad till 7 enheter (personligt meddelande från Eriksson, J-Å., 2002). Att relativtal används innebär att talen är färskvara då de förändras varje gång en ny beräkning görs. För 28 dagars NR betyder detta att alla inseminationer från 35 dagar – 4 år före körningsdatum inkluderas, för 56 dagars NR 63 dagar – 4 år samt för 168 dagars NR 175 dagar till 4 år före körningsdatum. Den förändring i NR-resultaten som kan inträffa över tiden beror på att fler rapporteringar kan ha kommit in om tjurarna. Dessa kan få stort inflytande på framför allt 168 dagars non-return resultat.

**Dotterfruktsamhetsvärden** baseras på fertilitetsuppgifter från kvigor, första och andra kalvare. I värdet vägs antal inseminationer per semineringsomgång, intervallet mellan kalvning och första insemination, brunststyrka samt eventuella fruktsamhetsbehandlingar in (Svensk Avel, [www.svavel.se](http://www.svavel.se), 2002). Yngre tjurar som ännu endast har kvigor, samt döttrar som bara kalvat en gång, som avkomma har således ej fullständigt index. Detta index kommer att förändras allt eftersom fler egenskaper inrapporteras (Personligt meddelande från H. Stålhammar, 2002).

**BLUP** (Best linear unbiased prediction) är den statistiska metod som används för att beräkna avelsvärden. Med denna metod byggs med hjälp av datorn ett stort nätverk med gemensamma förbindelser mellan djuren. Exempel på sådana förbindelser är kalvning under samma månad, kalvning under samma år eller släktskap. Detta gör att man simultant kan ta hänsyn till systematiska miljöeffekter samtidigt som avelsvärdena skattas. Genom att de enskilda tjurarnas inbördes släktskap finns med i beräkningarna korrigeras också automatiskt för ärftlig nivå under olika tidsperioder (Nicholas, 1996).

Rasen **Holstein** kommer i detta arbete att användas synonymt med **SLB** eftersom den gamla svenska SLB-rasen genom import av sperma, från framför allt amerikanska Holsteintjurar, nästan blivit helt inkorsad i Holsteinrasen.

## Material och metod

### *Material*

Materialet kommer från Svensk Avel och Skånesemin och omfattar resultat från totalt 375 Holsteintjurar. Uppgifter som ingår är tjurarnas identitet, härstamning, CVM-status, avelsvärden för bland annat dotterfruktsamhet och non-return resultat i form av relativtal samt antal inseminationer. Materialet från Svensk Avel omfattade de Holsteintjurar som är födda mellan 1995 och 1999 och det från Skånesemin inkluderade alla tjurar födda mellan 1993 och 2001 som använts i



avel. Non-return resultaten är angivna som relativtalt framräknade med hjälp av BLUP metodik. Tjurar med födelseår 1995–1999 valdes ut och anledningen till detta är att de flesta av dessa är testade för CVM, vilket inte alla äldre tjurar är. Non-return resultatens relativtalt kommer från den 26/8 2002 från Svensk Avel. Resultaten från Skånesemin kommer från den 6/9 2002. Dotterfruktsamhetsindexen är hämtade från Svensk Avels hemsida under de två första veckorna i september 2002 ([www.svavel.se](http://www.svavel.se)).

För att få ingå i studien sattes som nedre gräns att minst 75 inseminationer måste ha gjorts med varje tjur. Den officiella gränsen för att få publicera resultat är annars 100 inseminationer. Gränsen har satts något lägre i denna studie för att öka materialstorleken. Ett andra kriterium var att tjuren måste ha en känd CVM-status. Anledningen till att en del tjurar ej är testade för CVM är att de använts i liten omfattning och tagits ur aveln av andra skäl, varför det inte varit ekonomiskt motiverat att testa dem. En del tjurar som dött av olycksfall som ungtjurar har inte heller testats eftersom deras sperma ej använts i fortsättningen.

Ingen hänsyn har tagits till kornas CVM-status då insemination med bärare/icke bärare anses ha skett slumpmässigt fördelat på kor som kan vara bärare av CVM eller ej. Vidare har alla tjurar tagits med utan hänsyn till släktskap med CMI Bell.

### *Metod*

Procedure GLM (generalised linear model) i SAS-programpaket (SAS Institute Inc., 2000) användes för att undersöka effekterna av CVM-status, tjurens födelseår och far på non-return resultaten vid 28, 56 och 168 dagar samt på dotterfruktsamheten. Följande modell användes i analyserna av effekterna på fruktsamheten:

$$Y = \mu + \text{CVM-status} + \text{far (CVM-status)} + \text{födelseår} + \text{födelseår} * \text{CVM-status} + \text{error}.$$

Effekten av far fanns endast med i analysen av NR-resultat.

## **Resultat**

Av de totalt 375 tjurar som materialet bestod av, var 228 lämpade att ingå i studien då dessa uppfyllde urvalskriterierna. Av dessa 228 tjurar var antalet CVM-bärare 53 stycken, medan friförklarade och sannolikt fria var 175 stycken. De sannolikt fria hade ingen anlagsbärare för CVM i sin härstamning tre-fyra generationer bakåt.

Vid beräkandet av okorrigerade medeltal syns en numerisk skillnad vid 28, 56 och 168 dagars NR mellan tjurar som bär på CVM och de som är fria från defekten (Figur 7). Generellt ses även att tjurar som är CVM-positiva i medeltal har ett lägre maximiindex än de fria, för såväl 28, 56 som 168 d NR (Tabell 2). Låga minimivärden ses hos båda kategorierna. Spridningen på relativtalen för NR ökar med ökande NR intervall och särskilt då tjurarna är CVM-positiva.

Den statistiska analysen kunde inte påvisa några signifikanta skillnader mellan tjurgrupperna vid 28 dagars NR. Däremot kunde en tendens till signifikanta skillnader ses vid 56 dagars NR där de CVM-fria tjurarna i medeltal hade ett 1,3 enheter högre relativtalt för NR än CVM-bärarna. Vid 168 dagars NR då

relativtalet var 2,0 enheter högre för de fria tjurarna jämfört med CVM-bärarna var skillnaden mellan tjurgrupperna statistiskt signifikant (Tabell 3).

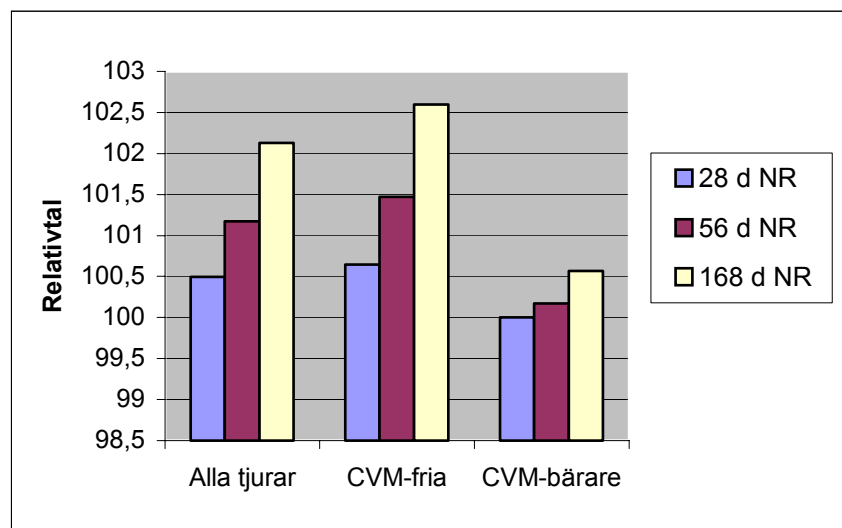


Fig. 7. Relativtval för fruktsamhet hos SLB-tjurar födda 1995-1999 med minst 75 inseminationer. Resultaten visas i form av okorrigerade medeltal beräknade vid 28, 56 respektive 168 dagars NR uppdelade på totalt antal tjurar i studien (n=228), CVM-fria (n=175) samt CVM-bärare (n=53).

Tabell 2 Okorrigerade medeltal, standardavvikelse och min- respektive max-värden för NR mått och dotterfruktsamhet uppdelat på alla SLB-tjurar födda mellan 1995-1999 med mer än 75 inseminationer (n=228), CVM-fria SLB-tjurar (n=175) och CVM-bärare (n=53).

Tidpunkt	Status	Medelvärde	Standardavvikelse	Minimum	Maximum
<b>28 d NR</b>	Alla tjurar	100,5	2,7	90	107
	CVM-fria	100,6	2,6	91	107
	CVM-bärare	100,0	3,2	90	105
<b>56 d NR</b>	Alla tjurar	101,2	4,1	84	110
	CVM-fria	101,5	3,9	88	110
	CVM-bärare	100,2	4,8	84	107
<b>168 d NR</b>	Alla tjurar	102,1	5,7	75	113
	CVM-fria	102,6	5,4	75	113
	CVM-bärare	100,6	6,2	81	110
<b>Dotterfrukt-samhet</b>	Alla tjurar	100,2	4,7	88	120
	CVM-fria	100,2	4,8	88	120
	CVM-bärare	100,2	4,3	90	111

Tabell 3. Korrigerade medelvärden (least-squares means), standardfel (SE) samt signifikanstest (probability värden (Pr)) för CVM-fria och CVM-bärande SLB-tjurar födda 1995-1999 med minst 75 inseminationer. Beräkningarna har gjorts för 28, 56 respektive 168 dagars NR.

28 d NR (relativtal)			
	Korrigerat medelvärde	SE	Pr > F
CVM-fria	100,7	0,296	0,277
CVM-bärare	100,2	0,444	
56 d NR (relativtal)			
	Korrigerat medelvärde	SE	Pr > F
CVM-fria	101,8	0,431	0,0762
CVM-bärare	100,5	0,646	
168 d NR (relativtal)			
	Korrigerat medelvärde	SE	Pr > F
CVM-fria	103,1	0,587	0,0392
CVM-bärare	101,1	0,88	

Pr-värden  $\leq 0,05$  anses vara statistiskt signifikanta.

Effekt av far med hänsyn tagen till att CVM-status hos avkomman, dvs avelstjurarna, kan variera, var signifikant vid alla tre NR-nivåerna. Effekten av födelseår var däremot inte signifikant. Inga signifikanta skillnader mellan de två tjurgrupperna beträffande dotterfruktsamhet kunde påvisas. Samspelseffekterna mellan födelseår och status var icke signifikanta för samtliga variabler.

## Diskussion

Denna studie har visat att det finns statistiskt signifikanta skillnader vid 168 dagars NR mellan tjurar som bär på CVM och de som ej är bärare av denna defekt. Detta trots att materialet i studien är begränsat med avseende på antal djur och tidsperiod. Denna begränsning gör att antalet semineringar som ligger till grund för de enskilda tjurarnas resultat i vissa fall är relativt få. Det finns även en signifikant skillnad beroende på tjurens far. Resultaten för NR, stämmer i stort överens med den danska studien av Nielsen och medarbetare (2003), som visade att fertilitetseffekter av CVM inte märks signifikant förrän någon gång efter 56 dagars dräktighet. En anledning till att det i det här fallet inte syns en signifikant skillnad förrän vid 168 dagars NR kan möjligen ha ett visst samband med att det är mått som används i Sverige.

En annan och sannolikt viktigare orsak till att det ej märks någon signifikant skillnad förrän vid 168 dagars NR är att tillräckligt många embryon och foster måste dö och resorberas eller aborteras innan skillnaden uppträder. Dessutom måste kon återfå sin cykliska aktivitet efter aborten innan hon rapporteras för ny insemination. Den tid det tar från det att fostret dött till dess att kon åter blir brunstig beror på hur nära inpå fosterdöden kon aborterar samt på när i dräktigheten detta sker. En abort före dag 70–80 leder till ny brunst hos kon inom 2–4 dagar (Larsson, 2001), medan en abort efter dag 100–120 inte ger en ny brunst förrän efter 2–5 veckor (Söderquist, 2001).

Att effekten av far är högregradigt signifikant är inte konstigt då fadern påverkar tjuren på många sätt, inte bara genom CVM-status. Vid början av studien förväntade vi oss även att se en skillnad i non-return resultat beroende på födelseår. Detta eftersom antalet heterozygoter för CVM i SLB-populationen fram till år 2000 har borde ha ökat. Någon skillnad beroende på födelseår sågs dock inte alls, vilket kan bero på att tjurarnas födelseår skiljer sig för lite i tid. En jämförelse med tjurar födda på 80-talet eller med de tjurar som används i dag skulle kanske ha gett en annan bild, om vilket det bara kan spekuleras.

Andelen tjurar som är CVM-positiva i denna studie är ungefär 23 %. Överensstämmelsen av detta resultat med den exakta förekomsten av CVM hos den svenska låglandboskaps populationen som helhet är dock inte känd. Om man i ett räkneexempel antar att 23 % av både tjurar och kor är bärare av CVM fås detta resultat. 23 % multiplicerat med 23 % av inseminationerna kommer att vara mellan två bärare, dvs 5,3% av parningarna. 25 % av dessa kommer att ge upphov till individer som är bärare av CVM-anlaget i dubbel uppsättning, dvs 1,3% av inseminationerna kommer att ge upphov till ett foster drabbat av CVM. Då det finns ca 170 000 SLB-kor med i den svenska kokontrollen, kommer antalet förlorade kalvar trots allt att bli stort. Om ungefär 170 000 SLB-kor och kvigor insemineras varje år skulle förlusten av foster vara ungefär 2 200 per år. Eftersom något problem med fruktsamheten ej uppmärksammats i allmänhet kanske det är möjligt att andelen CVM-bärare bland korna är lägre än 23 %.

Anledningen till att det inte påvisades en signifikant skillnad i dotterfruktsamhet mellan de två tjurgrupperna kan bero på att måttet i hög grad är sammansatt av olika egenskaper. I dotterfruktsamhetsindexet ingår bland annat intervallet mellan kalvning och första insemination. Denna faktor är i hög grad beroende på skötsel av korna och inte beroende av CVM, vilket även visades av Nielsen och medarbetare (2003). Om det varit möjligt att räkna på de enskilda egenskaperna i avelsvärdet skulle resultatet kanske ha sett annorlunda ut. Den egenskap som mest troligt kunde ha varit påverkad är antal inseminationer per semineringsomgång och detta endast om kon eller kvigan varje gång inseminerades med en tjur som var bärare av CVM.

Det går inte att uttala sig om en tjurs CVM-status endast genom att studera hans relativtal för non-return resultat jämfört med andra tjurars. Detta eftersom det finns CVM-bärare som har relativt bra non-return resultat och det finns CVM-fria tjurar med riktigt dåliga non-return resultat. Detta beror troligen på att det finns så många andra faktorer förutom CVM-status som inverkar på en tjurs fertilitet. Den svenske tjuren Häradsköp är ett exempel på en CVM-bärare med bra NR. De bra non-return resultaten gjorde att han ej misstänktes bära på defekten och länge var en av

Svensk Avels topptjurar. Generellt kan det sägas att tjurar med dåliga avelsvärden för fruktsamhet ej bör vara kvar i aveln. Om detta innebär att även tjurar som har dålig fruktsamhet på grund av en genetisk defekt försvinner är det bra. Den enda nackdelen kan vara att tjuren tas ur aveln utan att den verkliga orsaken uppdagas och att det då kan dröja ytterligare något år innan en genetisk defekt upptäcks. Med det nya rapporteringssystemet för missbildningar finns dock möjligheter till att tidigare upptäcka ärftliga defekter. Det som krävs är dock att djurägarna är duktiga på att rapportera till kokontrollen och KAP om en kalv varit missbildad och att de försöker klassificera missbildningarna så noggrant som möjligt.

Kalvarna i den danska studien av Agerholm och medarbetare (2001) vägde i medeltal mindre än vad normalt utvecklade kalvar väger vid motsvarande ålder. Hos människa har man sett att barn med en låg födelsevikt (< 2100 g), med större sannolikhet har strukturella missbildningar än barn med en högre födelsevikt (> 2500 g). Vidare har det visats att ungefär 20 % av spontant aborterade människofoster är svårt tillväxthämmade (Shardein, 2000).

Då det inte har rapporterats några fel i nervsystemet eller i skallbenet hos CVM drabbade kalvar tyder det på att defekten i somitogenesen ej beror på ett felaktigt slutet neuralrör eller på att somitomererna ej bildas normalt. Det som har störts i embryogenesen är separationen av somiterna och framför allt segmenteringen av sclerotomen eftersom hemivertebrae och sammanvuxna kotor är vanliga fynd. Eftersom det ännu inte publicerats några uppgifter om vilken gen som är defekt kan det bara spekuleras i vad som är fel vid CVM. Med ledning av obduktionsfynden hos drabbade kalvar kan den defekta genen ha en roll i Notch-Delta vägen och resultera i en felaktig polarisering av somiterna. En anledning till denna spekulation är att defekter i liganderna Dll3 respektive Jagged1/Serrate1 på mus respektive människa ger liknande missbildningar (Nacke et al, 2000). Dessa missbildningar involverar dock fler organsystem än vad som setts vid CVM. Det kan därför vara troligt att CVM-defekten har likheter med rv-mutationen på mus. Denna mutation ger upphov till felaktigheter i sclerotomen genom att det inte uppstår en kranial och kaudal del av sclerotomen då generna Pax1 och Mox1 ej uttrycks korrekt (Nacke et al, 2000). Denna bristande uppdelning av sclerotomen leder till att de ej kommer att separeras korrekt alternativt sitter ihop och bildar blockkotor. Anledningen till att det framför allt är kotorna i hals- och brösttrygg som drabbas är oklart. Med ledning av det man vet om tillväxthämning hos människofoster och missbildningar hos dem kan det tänkas att en tillväxtfaktor har muterat. En defekt tillväxtfaktor skulle i sig själv kunna leda till att fostret dör men även till strukturella missbildningar om den uttrycks vid fel tidpunkt eller i fel mängd eller form.

Eftersom alla kalvar inte har exakt lika missbildningar utan de varierar i omfattning är det troligt att genen antingen uttrycks varierande eller att det är ett komplex av gener som påverkar varandra. Det finns exempel på recessiva defekter med varierande uttryck, tex rv-genen hos mus där missbildningen uttrycks i varierande grad hos de som är homozygota (Nacke et al, 2000). En normal genetisk variation i embryots eller fostrets övriga genom skulle kunna vara en orsak till att man ser missbildningar i olika hög grad. Detta eftersom olika tillväxtfaktorer och andra genprodukter stimulerar respektive hämmar samt kan kompensera varandra i olika grad.

## **Slutsatser**

Studien visade att Complex Vertebral Malformation har en negativ effekt på fruktsamheten hos SLB. Detta genom att leda till signifikant sämre non-return resultat hos tjurar som är bärare av den defekta genen jämfört med CVM-fria tjurar. Skillnaden ökar med ökande antal dagars non-return resultat. Förutom tjurens CVM-status har hans far en stor inverkan på non-return resultaten. Ingen påverkan av tjurens CVM-status på dotterfruktsamhetsindexet kunde påvisas. En trolig orsak till att det är ett mått sammansatt av flera olika fruktsamhetsegenskaper. Eftersom en tjurs non-return resultat beror på fler faktorer än hans CVM-status går det inte med säkerhet att förutsäga om en tjur är bärare av CVM eller ej genom att enbart studera hans NR. Det går förmodligen inte heller att förutsäga om en avelstjur bär på en annan genetisk defekt som påverkar fostrets överlevnadsförmåga genom att enbart studera non-return resultat.

## Summary

### *Effects of Complex Vertebral Malformation on fertility in Swedish Holstein cattle*

Complex Vertebral Malformation (CVM) is an autosomal recessive inherited defect in the Holstein breed. The affected homozygous calves are aborted during a period from early to late gestation or stillborn almost at full term. The diagnosis of CVM must include malformations of the vertebral column, low weight for gestational age and arthrogryposis. Fifty percent of affected calves have also showed heart malformations and some of the calves had cleft palate, low set ears and a shortened upper jaw. The largest problem with highest economic importance has not been the stillborn calves but the losses of pregnancies. These losses of pregnancies have led to too early and involuntary culling of cows.

In this study Non-return rates (NRR) of Swedish Holstein bulls, used in breeding by Svensk Avel and Skånesemin, were compared according to the CVM-status of the bull. The bulls were born in 1995 to 1999. A minimum of 75 inseminations was required for the bulls to be assigned to the study and their CVM-status had to be known. A total of 228 bulls matched these criteria, of which 53 were tested CVM-positive and 175 negative or believed to be negative since no bull in their descent were a known carrier.

The SAS-programme (SAS Institute Inc., 2000) was used to determine the effects of CVM-status, the bull's father and birth year on Non-return rates for 28, 56 and 168 days. Effect of CVM-status on daughter fertility was also investigated.

A statistically significant difference was shown for 168 days NRR ( $p = 0.039$ ) where the difference between CVM-carriers and non-carriers were 101.1 +/- 0.9 vs. 103.1 +/- 0.6. There was no significant difference at 28 days NRR, and an almost significant difference at 56 days NRR. The effect of father was highly significant for NRR. The effect of birth year had no significant effect on NRR. The effect of CVM-status on daughter fertility was not significant.

Possible reasons to why there is no difference between the groups until 168 days NRR might be that there has to be a certain amount of pregnancy losses until the difference can be noticed. The cows also have to return to service after resorption or abortion of the foetuses and this have to be detected by their owner. Secondly, 168 days NRR is the measure being used in Swedish practice. A possible reason to why there was no difference in daughter fertility between CVM-carriers and non-carriers is that it is a complex measure composed by several different subtraits of fertility of which the only trait that could be affected by CVM is the number of inseminations per service.

The thesis also includes a summary of the early normal bovine embryogenesis and the development of the vertebral column and the heart. Possible causes of disturbances in the embryogenesis in CVM affected embryos were discussed.

Additionally a description of the Swedish system for reporting malformations is given. This is a compulsory system within the Swedish Milk and Beef Recording Schemes.

## Referenser:

- Agerholm, J.S., Bendixen, C., Andersen, O. & Arnbjerg, J. 2001. Complex vertebral malformation in Holstein calves. *Journal of veterinary diagnostic investigation* 13:283–289.
- Agerholm, J.S., Bendixen, C., Andersen, O. & Arnbjerg, J. 2000. Complex vertebral malformation in Holstein calves.
- Aulehla, A., & Johnson, R.L. 1999. Dynamic Expression of lunatic fringe Suggests a Link between notch Signaling and an Autonomous Cellular Oscillator Driving Somite Segmentation. *Developmental Biology* 207: 49–61.
- Betts, D.H., MacPhee, D.J., Kidder, G.M. & Watson, A.J., 1997. Ouabain Sensitivity and Expression of Na/K-ATPase  $\alpha$ - and  $\beta$ -Subunit Isoform Genes During Bovine Early Development. *Molecular Reproduction and Development*. 46:114-126.
- Borchersen, S., 2001. Danish scientists reveal the gene responsible for CVM, a lethal heritable defect in Holstein Cattle. *Danish Cattle Breeding, press release* 2001 08 17.
- Carlton, W.W. & McGavin, M.D. 1995. *Thomson's Veterinary Pathology. 2: a upplagan* Mosby – Year Book, Inc. St. Louis, Missouri, USA.
- Embryo images, Normal and Abnormal Mammalian Development, [http://www.med.unc.edu/embryo\\_images/](http://www.med.unc.edu/embryo_images/)
- Eriksson, J-Å., 1998. *Mjölkrasavel, Naturbrukets husdjur, del 2. Natur och Kultur/LTs förlag, Stockholm, Sverige. s 557-573.*
- Eriksson, J-Å., augusti 2002. Personligt meddelande. Agronomie doktor, Svensk Mjolk.
- Holstein Association USA, News releases 2001. CVM testing of influential sires. [http://www.holsteinusa.com/html/newsrel\\_1201.html](http://www.holsteinusa.com/html/newsrel_1201.html)
- Gilbert, S.F. 1994. *Developmental Biology. 4: e upplagan.* Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA.
- Gilbert, S.F. 2002. *Developmental Biology. 6: e upplagan.* Online publicering. [www.devbio.com](http://www.devbio.com)
- Gustafsson, H., 1997. *Fortplantning, ur Mjölkkor.* LTs förlag, Stockholm, Sverige. s 27-63.
- Kirby, M. 2002. Molecular Embryogenesis of the Heart. *Pediatric and Developmental Pathology*, <http://link.springer.de/link/service/journals/10024/contents/02/0004/paper/body.html>
- Landbrugets Rådgivningscenter, 2001. CVM-mutationen er ikke begrænset til efterkommere efter den amerikanske Holstein Friesian tyr – Carlin-M Ivanhoe Bell. *Pressmeddelande 2001 11 01.*
- Larsson, B. 2001. Brunstsynkronisering. *Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för Obstetrik och Gynekologi*, Kompendium i nötkreaturens reproduktion.
- Latshaw, W.L., 1987. *Veterinary Developmental Anatomy.* B.C. Decker Inc. Philadelphia, Pennsylvania, USA.
- Nacke, S., Schäfer, R., Hrabé de Angelis, M. & Mundlos, S. 2000. Mouse Mutant Rib Vertebrae (rv): A defect in Somite Polarity. *Developmental Dynamics* 219:192–200.
- Nicholas, F.W. 1996. *Introduction to Veterinary Genetics.* Oxford University Press. New York, USA.
- Nielsen, U.S., Aamand, G.P., Andersen, O., Bendixen, C., Nielsen, V.H. & Agerholm J.S. 2003. Effects of complex vertebral malformation on fertility traits in Holstein cattle, *Livestock Production Science* 79:233-238
- Noakes, D.E., Parkinson, T.J. & England, G.C.W. 2001. *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics.* WB Saunders, Harcourt Publishers Limited, Kina.
- Noden, D.M. & de Lahunta, A. 1985. *The Embryology of Domestic Animals Developmental Mechanisms and Malformations.* Williams & Wilkins, Baltimore, USA.
- Olsson, S-O., Håård, M. Strid, G., Ekström, H., Rundström, U. & Arnesson, P., 2001. Nytt sätt att rapportera missbildningar hos nötkreatur. *Svensk veterinär tidning* 53:582–584.
- Olsson, S-O. 2002. Rapportering av missbildningar. *KossaNova* v33 2002.
- Olsson, S-O. 2002. Va. Nytt sätt att rapportera missbildningar. *Svensk Mjolk, Affärsutveckling 2002-09-30.*



- Olsson, S-O. November 2002. Personligt meddelande. Leg veterinär, Svensk Mjök.
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C. & Hinchcliff, K.W. 2000. *Veterinary Medicine*. 9:e upplagan. W.B. Saunders Company Ltd, London, New York, Philadelphia, San Fransisco, St Louis, Sydney.
- Russell, R.G., Doige, C.E., Oteruelo, F.T., Hare, D., Singh, E. 1985. Variability in Limb Malformations and Possible Significance in the Pathogenesis of an Inherited Congenital Neuromuscular Disease of Charolais Cattle (Syndrome of Arthrogryposis and Palatoschisis). *Veterinary Pathology* 22:2-12.
- Rüsse, I. & Sinowatz, F. 1991. *Lehrbuch der Embryologie der Haustiere*. Verlag Paul Parey, Berlin och Hamburg, Tyskland.
- Sadler, T.W., 2000. *Langman's Medical Embryology*. 8:e upplagan. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, USA.
- SAS Institute Inc., 2000. *SAS version 8.1*, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Sattler, C., 2001. CVM: Putting it in Perspective. *Select sires*, [http://www.selectsires.com/cvm\\_perspective.html](http://www.selectsires.com/cvm_perspective.html)
- Shardein, J.L, 2000. *Chemically induced birth defects*. 3:e upplagan. Marcel Dekker förlag.
- Stålhammar, E-M. 1994. Genetic studies on fertility in AI bulls. II. Environmental and genetic effects on non-return rates of young bulls. *Animal Reproduction Science* 34:193–207.
- Stålhammar, H., oktober 2002. Personligt meddelande. Avelsledare SLB, Svensk Avel Svensk Mjök, 2002. *Husdjursstatistik 2002*. T-nr 2614, Svensk Mjök, 631 84 Eskilstuna.
- Söderquist, L. 2001. Induktion av abort/förlossning. *Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för Obstetrik och Gynekologi*, Kompendium i nötkreaturens reproduktion.
- Tajbaksh, S., & Spörle, R. 1998. Somite Development: Constructing the Vertebrate Body Meeting Review, *Cell* 92:9–16.