



Utvärdering av tävlings- och skadehistorik hos en population svenska varmblodiga hästar typade för gener som hos människa ger Ehlers-Danlos syndrom

Johan Henriksson

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Uppsala 2024



Utvärdering av tävlings- och skadehistorik hos en population svenska varmblodiga hästar typade för gener som hos människa ger Ehlers-Danlos syndrom

Evaluation of competition and pathologic history in a population of Swedish Warmblooded horses typed for genes associated with Ehlers-Danlos Syndrome in humans

Johan Henriksson

Handledare: Sofia Mikko, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjursgenetik

Examinator: Anna Bergh, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX1003

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Kursansvarig inst.: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2024

Omslagsbild:

Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.

Nyckelord: Ehlers-Danlos syndrom, svensk varmblodig häst, *Warmblood Fragile Foal Syndrome*, kollagendefekt, *Genome Wide Association Study*

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Aveln av hästar för ridsport har under de senaste decennierna inriktat sig alltmer grenspecifikt. Framför allt med inriktning mot de stora grenarna inom internationella ridsportförbundet (FEI), hoppning och dressyr. Studier har visat att dressyrhästar är överrepresenterade anlagsbärare av en mutation i *PLOD1*. Hos människa ger en mutation i genen upphov till kyfoskopiotisk Ehlers-Danlos syndrom (kEDS) och hästar som är homozygota bärare av den muterade genen föds med den fatala sjukdomen *Warmblood Fragile Foal Syndrome* (WFFS). Hos både häst och människa är sjukdomarna klassade som kollagendysplasier.

Ehlers-Danlos syndrom är en samling av tretton olika kollagendysplasier för vilka den genetiska bakgrunden är känd för tolv. Diagnoserna är bland annat förknippade med hypermobila leder, hyperelastisk hud, kronisk ledvärk och muskelsvaghet.

Syftet med denna studie var att undersöka om gener som hos människa ger EDS korrelerar med liknande skador hos hästar som hos människa, något som skulle kunna påverka djurvälfaerden negativt, samt att undersöka variation i dessa gener korrelerar med hur hästar i sport.

Studien genomfördes som en *Genome Wide Association Study* baserad på tävlingsdata, djurägarintervjuer och genotypdata från en population om 380 individer. Intervju av 6 % samt tävlingsdata från 2/3 av studiepopulationen låg till grund för fenotypdata. Signifikant association sågs mellan tre av hälsofenotyperna och gener som orsakar EDS. De signifikanta generna är lokaliserade inom histokompatibilitetskomplex klass III och korrelerade med patellaupphakning, komplicerad sårläggning och annan inflammatorisk sjukdom.

Nyckelord: Ehlers-Danlos syndrom, svensk varmblodig häst, *Warmblood Fragile Foal Syndrome*, kollagendefekt, *Genome Wide Association Study*

Abstract

Modern breeding for sport horses has in recent decades specialised towards specific disciplines. Mainly towards the major Fédération Equestre Internationale (FEI) disciplines show jumping and dressage. Studies have shown that dressage horses are overrepresented carriers of a mutation in the *PLOD1* gene. Human carriers of the same mutation are diagnosed with kyphoscoliotic Ehlers-Danlos syndrome (kEDS) while horses who are homozygote carriers are born with warmblood fragile foal syndrome (WFFS), a 100% fatal disease. The diagnoses are classified as collagen dysplasia in both horses and humans.

Ehlers-Danlos Syndrome is a group of thirteen collagen dysplasias. The causative genes are known for twelve of these. The diagnoses are commonly associated with hypermobile joints, hyper-extensive skin, chronic joint pain and muscle weakness.

The aim of this study was to investigate whether genes that causes EDS in humans correlates with similar diseases in horses, which would have a bad effect on animal welfare, and to investigate if these genes correlates with the horses success in sport.

The study was conducted as a Genome Wide Association Study based on competition results, interviews with owners and genotype information from 380 individuals. Interview results from 6% and competition results from 2/3 of the population conducts the phenotype data. There was a significant association between tree health traits and genes that causes EDS. The significant genes are located within the major histocompatibility complex class III and correlated with the phenotypes upward fixation of the patella, wound healing complications and other inflammatory pathologies.

Keywords: Ehlers-Danlos syndrom, Swedish Warmblood, *Warmblood Fragile Foal Syndrome*, collagen defect, *Genome Wide Association Study*

Innehållsförteckning

Förkortningar	9
1. Inledning	11
1.1 Syfte	12
1.1.1 Frågeställningar	12
2. Litteraturoversikt.....	13
2.1 Bindväv	13
2.2 Ehler-Danlos Syndrom	13
2.3 Warmblood Fragile Foal Syndrome	14
2.4 Hållbarhet i träning	15
2.5 Tävlingsdata.....	16
2.6 Genome Wide Association Study	17
3. Material och metod	18
3.1 Population	18
3.1.1 Intervju	18
3.1.2 Tävlingsresultat.....	19
3.1.3 Genotypdata	19
3.2 Associationsstudie	19
3.2.1 Genotypdata	19
3.2.2 Fenotypdata.....	20
4. Resultat	21
4.1 Intervju	21
4.2 Tävlingsresultat	21
4.3 Genotyper	22
4.4 Associationstest	22
5. Diskussion	26
5.1 Patologi	26
5.2 Tävlingsresultat	27
Referenser.....	29
Populärvetenskaplig sammanfattning	33

Tack	34
Bilaga 1.....	35
Bilaga 2.....	37
Bilaga 3.....	39

Förkortningar

EBV	Estimated Breeding Value
ECM	Extracellulär matrix
EDS	Ehlers-Danlos syndrom
hEDS	Hypermobil Ehlers-Danlos syndrom
GWAS	Genome Wide Association Study
SNP	Single Nucleotide Polymorfism
SvRF	Svenska Ridsportförbundet
SWB	Swedish Warmblood (svenskt varmblod)
TDB	Tävlingsdatabasen för Svenska Ridsportförbundet
WFFS	Warmblood Fragile Foal Syndrome
PLOD 1	Procollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1

1. Inledning

Under de senaste decennierna har det skett en allt mer selektiv avel inom svenska varmblodsaveln med grenspecifik inriktning antingen mot hoppning eller dressyr (Bonow et al. 2023). Denna selektion bland avelsindivider korrelerar med oavsiktlig selektion för gener som hos människa orsakar överrörlighetsdiagnoser, Ehlers-Danlos syndrom (EDS) (Ablondi et al. 2019a). Det är sedan tidigare känt att gener som orsakar en variant av EDS hos människa även orsakar sjukdom hos häst (Monthoux et al. 2015). En punktmutation i genen *PLOD1* som hos människa orsakar kyfoskopiotisk EDS (kEDS) ger hos häst *Warmblood Fragile Foal Syndrome* (WFFS) en sjukdom som karaktäriseras av föl som föds med skör hud, som lätt lossnar från underliggande vävnad, och som ofta får multipla hematom.

Ehlers-Danlos syndrom, som påverkar kroppens stödjevävnad, är ett humant syndrom som innefattar tretton ärftliga kollagendysplasier (Ghali et al. 2019). Vanliga symtom för EDS är bland annat överrörliga leder, senkontrakturer och hyperelastisk hud. Detta orsakar i sin tur ofta kronisk ledsmärta, utmattning, svår-läkta sår och svår ärrbildning.

Vid all typ av fysisk träning påfrestas kroppens stödjevävnad i varierande grad (Aicale et al. 2018). Upprepad påfrestning kan i förlängningen leda till förslitnings-skador som medför ett lidande för individen och kan hämma möjligheterna till fortsatt träning. Skador från rörelseapparaten, inkluderat led- och skelettpatologi, övriga inflammatoriska processer från densamma samt hudskador har historiskt legat till grund för stor del av utslagsorsakerna för hästar (Egenvall et al. 2006). I en studie av försäkringsdata svarade det för över 70 % av utslagsorsakerna av svenska hästar.

Genom att undersöka eventuella samband mellan generna som ger EDS hos människa med prestationsresultat och förekomst av skador hos häst kan man komma med riktade rekommendationer till hästägare avseende det fortsatta avelsarbetet.

1.1 Syfte

Syftet med denna studie är att undersöka om variation i genotyp för någon av generna som hos människa ger EDS korrelerar med nedsatt hållbarhet för träning och tävling av SWB-hästar.

1.1.1 Frågeställningar

Korrelerar en specifik genotyp i någon av generna som hos människa ger EDS med prestationsnivån hos tävlingshästar?

Korrelerar en specifik genotyp i någon av generna som hos människa ger EDS med förekomsten av någon bindvävsrelaterad skada hos hästar?

2. Litteraturöversikt

2.1 Bindväv

Bindväv utgör kroppens stomme och har till uppgift att stödja, skydda, sammankoppla och förankra olika delar av kroppen (Sjaastad 2016). Bindväv delas in i fyra olika huvudtyper av vävnad: fibrös bindväv, broskvävnad, benvävnad och fettvävnad. Beroende på vilken typ av bindväv finns olika celler däri som producerar ett extracellulärt matrix (ECM) som också varierar beroende på vävnadstyp.

Fibrös bindväv utgörs av fibroblaster som i huvudsak producerar proteinerna kollagen och elastin som binds till fibrer (Sjaastad 2016). Beroende på nätverksstruktur hos kollagenfibrerna erhålls varierande motståndskraft mot dragkrafter. I fast fibrös bindväv är kollagenfibrerna packade tätt ihop och i samma riktning vilket ger en stark hållfasthet mot dragningar. Ett löst nätverk som i lucker fibrös bindväv där kollagenfibrerna ligger mindre tätt är draghållfastheten inte lika stark. Mängden och kvalitén på elastinfibrerna avgör hur god elasticitet vävnaden har. Elastinfibrerna är spiralformade vilket tillåter den att dras ut och sedan återfå sin ursprungliga form vid avslappning av vävnaden.

Kollagendysplasier kan orsaka försämrad funktion av alla kollagena vävnader. Den genetiska bakgrunden till ett flertal kollagendysplasier hos människa och våra hus- och produktionsdjur finns idag dokumenterad (Ghali et al. 2019; Coussens et al. 2021). Inom humanvården klassas dessa dysplasier som olika typer av Ehlers-Danlos syndrom (EDS) beroende på symtombild och genetiska tester. Beroende på vilken funktion som är påverkad ger dysplasierna upphov till olika kliniska attribut. Vanligt förekommande är dock hypermobila leder, hyperelastisk hud, bråck och utmattnings. Detta ger som följd ofta svårläkta sår, kronisk ledvärk och subluxationer.

2.2 Ehler-Danlos Syndrom

Ehlers-Danlos syndrom är ett humansyndrom som karakteriseras av ärftliga kollagendysplasier. I dag delar man upp sjukdomen i tretton olika varianter som skiljs åt av olika kliniska attribut där de vanligast förekommande typerna är klassisk, vaskulär och hypermobil EDS (Malfait et al. 2017). Den genetiska bakgrunden är känd för tolv av de olika typerna av EDS, se tabell 1, där man känner till mutationer i nitton olika gener som antingen kodar för bildandet av kollagen eller kollagenmodulerande proteiner (Malfait et al. 2017; Ghali et al. 2019).

Trots att det idag går att konfirmera de flesta EDS-diagnoserna genetiskt kvarstår en av de vanligast förekommande varianterna, hypermobil-EDS (hEDS), att definiera den genetiska orsaken till. Det hypotiseras att orsaken till att bakgrunden fortfarande är okänd beror på genetisk heterogenitet. Diagnostiken kring hEDS kompliceras ytterligare av att symtomen liknar andra EDS-diagnoser varför patienten ofta tillskrivs en annan diagnos (Malfait et al. 2017). Personer med hEDS är ofta asymtomatiska i sin ungdom men utvecklar kroniska smärttillstånd med tilltagande ålder. Smärtan härrör då ofta från hypermobila leder och muskler kring hypermobila leder (Tinkle et al. 2017). Ett av de vanligaste kliniska tecknen vid EDS är hypermobila leder och ses i nästan samtliga varianter av EDS i varierande grad (Rombaut et al. 2012a; Ghali et al. 2019).

Tabell 1. Genetisk korrelation för EDS-diagnoser (Monthoux et al. 2015; Leegwater et al. 2016; Wobbe et al. 2022).

Human sjukdom	Involverade gener	Eventuell ekvin sjukdom
Klassisk EDS	COL5A1, COL5A2, COL1A1	
Klassisk-liknande EDS	TNXB	
Cardiac-valvulär EDS	COL1A2	
Vaskulär EDS	COL3A1, COL1A1	
Hypermobil EDS	okänd	
Arthochalasia EDS	COL1A1, COL1A2	
Dermatospraxis EDS	ADAMTS2	
Kyfoskoliotisk EDS	PLOD1, FKBP14	Warmblood Fragile Foal Syndrome (PLOD1)
Brittle Cornea Syndrom	ZNF469, PRDM5	
Spondyloplastisk EDS	B4GALT7, B3GALT6, SLC39A13	Dvärgväxt och överrörlighet (B4GALT7)
Musculocontractural EDS	CHST14, DSE	
Myopatisk EDS	COL12A1	
Peridontal EDS	C1R, C1S	

2.3 Warmblood Fragile Foal Syndrome

Warmblood Fragile Foal Syndrome (WFFS) är en autosomalt recessiv sjukdom som först beskrevs hos hästar av halvblodsras men har sedan setts även hos andra raser (Monthoux et al. 2015; Aurich et al. 2019; Metzger et al. 2021). Homozygota föl som föds med sjukdomen har ofta skör hud som lätt slits av från underliggande epidermis, ofta med omfattande sårskador som följd. Lederna och skelettets stödje-

vävnad är slapp och hyperextensiv. Homozygota individer är ofta dödfödda, dör kort efter födseln eller avlivs i tidigt skede av etiska orsaker.

Sjukdomen orsakas av en punktmutation i genen procollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1 (*PLOD1*) (c.2032G > A, p.Gly678Arg) (Winand 2014). Hos människa ger samma mutation upphov till kyfokoliotisk EDS (Malfait et al. 2017). *PLOD 1* kodar hos häst för enzymet lysylhydroxylas 1 (LH1) vilket har en viktig roll vid bildandet av kollagenfibrer. Hos individer som är homozygota för mutationen har onormalt kollagen i dermis beskrivits, där kollagenbuntarna varierade i tjocklek och med onormalt avstånd i den kollagena arkitekturen (Monthoux et al. 2015; Metzger et al. 2021).

En studie har visat att dräktighetsresultat sjunker vid betäckning med hingstar som är bärare av WFFS-allel (Wobbe et al. 2022). Studien kunde inte dra några slutsatser om effekter av stoets genotyp men det hypotiseras att effekterna på dräktighetsresultaten kan vara tydligare om även stoet är bärare av WFFS.

Flertalet studier har påvisat tydliga samband mellan genotyp och fenotyp där bärare av WFFS-mutationen har bättre egenskaper för dressyr (Metzger et al. 2021; Ablondi et al. 2022; Wobbe et al. 2022). Ablondi med flera visade 2022 att bärare av mutationen hade signifikant högre poäng för ”dressyr och ”temperament för gångarter” vid unghästbedömning än icke-bärare (2022). Vidare fastslog de att mutationen bland annat även påverkar de exteriöra poängen såväl som poängen för samtliga gångarter hos förmodade gångartshästar. Wobbe med flera visade i sin studie att bärare av den muterade genen hade högre estimated breeding value (EBV) avseende dressyr, ridbarhet och samtliga gångarter (2022).

2.4 Hållbarhet i träning

Coussens med flera visade i en kohort-studie att humanpatienter diagnosticerade med hEDS hade signifikant lägre muskelstyrka än kontrollgrupp (2021). Vidare kom de till slutsatsen att patienter hade sämre muskeluthållighet och högre skattad smärtupplevelse i samband med styrketestet jämfört med kontrollgruppen. Liknande resultat har setts i tidigare studier som också fastställt att smärtan håller i längre tid efter undersökning (Rombaut et al. 2012b). Smärta i samband med fysisk aktivitet diskuteras vidare i denna studie kunna påverka vardagliga sysslor och orsaka minskad motivation till rörelse vilket leder till en negativ spiral där de påverkade får allt sämre livskvalité.

Det är inte ovanligt att patienter med hEDS rapporteras lida av utmattning såväl fysiskt som psykiskt (Tinkle et al. 2017). Detta, diskuterar författarna kan medföra nedsatt mottaglighet för både fysisk som kognitiv träning.

Fysisk utmattning påverkar stabiliteten i leder negativt och kan således öka risken för överbelastningsskador. Detta har bland annat visats i en studie som undersökte knäledens stabilitet under och efter ett utmattningstest (Dickin & Doan 2008). I samma studie belyste forskningsgruppen även en ökad återhämtningstid efter att musklerna blivit utmattade. I en studie som undersökte proprioceptionen hos en patientgrupp med hEDS kom forskarna fram till att patienter hade nedsatt proprioception i knäleden jämfört med kontrollgruppen, något som kan öka skaderisken i den patientgruppen (Rombaut et al. 2010).

2.5 Tävlingsdata

Det är svårt att mäta hästars hälsa över tid, dels finns inget sammantaget register över skadehistorik, dels går mycket information om hästar förlorad vid ägarbyten. Endast ett fåtal hästar har samma ägare genom hela livet.

Svenska ridsportförbundet (SvRF) samlar genom tävlingsdatabasen (TDB) in data från samtliga tävlingar i hoppning, dressyr och fälttävlan i Sverige. Denna data innefattar utöver generell information som plats, tid och klass även specifik information rörande resultat från samtliga startande ekipage i varje klass. Placerade ekipage erhåller poäng enligt fastställd poängtabell från SvRF. För att kvala till högre tävlingsnivå krävs att tävlande har visst antal placeringar eller ett visst resultat på lägre nivå.

Studier som har undersökt livslängd och hållbarhet har tidigare använt sig bland annat av utdrag från försäkringsbolag (Egenvall et al. 2006). Dessa utdrag är anonymiserade och kan därför inte kopplas genetiskt på individuell nivå. Wallin med flera beskrev hur de använde livslängd för att jämföra relevans mellan olika bedömningspunkter vid unghästtest (Wallin et al. 2001). En komplicerande faktor i studien är att många hästar har alternativa karriärer i olika stadier av livet. En häst som ej längre är sund för arbete eller tävling kan få många extra år som sällskaps- eller avelsdjur (Braam et al. 2011).

Att använda sig av tävlingsaktiv tid och vidare undersöka vilken nivå hästen tävlat på kan med fördel användas som mått på hållbarhet (Braam et al. 2011; Ricard & Blouin 2011; Jönsson et al. 2014). Dessa studier har bland annat visat på att ju tidigare hästar kommer in i sporten desto längre tävlingskarriär har de, men också att hästar som tävlar i fler discipliner i ung ålder har fler tävlingsaktiva år.

2.6 Genome Wide Association Study

Inom genetikstudier är det vanligt att undersöka variationer i arvsmassans baspar (Dehghan 2018). Dessa variationer kännetecknas som insertioner eller deletioner av arvsmassa i en region alternativt mutationer av enstaka baspar kallat *Single Nucleotide Polymorfism* (SNP).

För att bättre förstå orsakssambandet mellan sjukdomar och bakomliggande genetik kan användning av *Genome Wide Association Studies* (GWAS) tillämpas, där samband mellan regioner i genomet och särskilda fenotyper undersöks (Dehghan 2018). Olika genvarianter är mer eller mindre vanliga i den generella populationen. I specialiserade populationer, exempelvis populationer med högre sjukdomsfrekvens, kan dock mutationer tendera att förekomma mer frekvent. Detta kan undersökas med hjälp av variationer inom SNP- eller sekvensdata från genomet tillsammans med data om fenotyper från samma population.

Inom GWAS görs många efterföljande analyser. Detta medför en ökad risk för ökad signifikans ju fler analyser som genomförs (Dehghan 2018). Därav kan p-värdet 0,05 som vanligen används för statistisk säkerhet inte appliceras på GWAS. För att fastställa vad som är ett signifikant statistiskt resultat i en GWAS är det vanligt att dividera 0,05 med antalet analyser som genomförs, denna korrigering av p-värdet kallas Bonferoni. Om studien analyserar en egenskaps gentemot 500.000 SNPs sättes följaktligen p-värdet till $0,05/500.000 = 1 * 10^{-7}$.

Grupper inom en population kan tendera att visa tydligare association med undersökta fenotyper (van den Berg et al. 2019). Detta kallas genomisk inflation och kan orsakas av populationsstratifiering, att gener i stor utsträckning nedärvs tillsammans eller stark korrelation mellan genotyp och fenotyp. Korrigering för genomisk inflation görs för att kontrollera den verkliga associationen mellan genotyp och fenotyp snarare än ökat släktskap (Dehghan 2018; van den Berg et al. 2019).

3. Material och metod

3.1 Population

I denna studie har data från 380 SWB-hästar, födda mellan 2010 och 2011, undersökts. Dessa hästar har i ett pågående forskningsprojekt genotypats med SNP-chip avseende gener som hon människa ger EDS (Ablondi et al. 2019b, 2022). Samtliga har genomfört unghästbedömning i SWB:s regi vid 3 års ålder. Individerna grupperades efter förmodad grentillhörighet (allround, dressyr eller hoppning) baserat på härstamning se tabell 2, där fäder och morfäder tilldelats grentillhörighet baserat på avelsindex.

Tabell 2. Förmodad grentillhörighet för de 380 individerna baserat på härstamning där fäder och morfäder tilldelats grentillhörighet baserat på avelsindex.

Far	Morfar	Grentillhörighet
Hopp	Hopp	Hopp
Hopp	Dressyr	Allround
Hopp	Allround	Hopp
Dressyr	Hopp	Allround
Dressyr	Dressyr	Dressyr
Dressyr	Allround	Dressyr

3.1.1 Intervju

Intervju som syftade till att undersöka individernas skadehistorik genomfördes. Intervjuer genomfördes per telefon med samtliga identifierade djurägare till vilka kontaktuppgifter fanns att tillgå offentligt och följde ett standardiserat intervju-protokoll (se bilaga 1). Uppringning som ej besvarades följdes av ett textmeddelande med information om syftet med samtalet samt en ytterligare uppringning vid senare tillfälle om den tillfrågade ej avböjt medverkan.

Till grund för protokollet ligger ett tidigare arbete inom samma forskningsprojekt. Vissa omarbetningar har gjorts, dels för att kunna kombinera protokollet med andra

projekt, dels för att kunna följa frågeordningen smidigare under intervjun. Frågor som varit tydligt subjektiva har uteslutits till det uppdaterade protokollet.

3.1.2 Tävlingsresultat

Tävlingshistorik för de 380 hästarna extraherades från TDB:s databas. Internationella resultat eftersöktes för samtliga hästar i två externa databaser (FEI Database u.å.; HorseTelex u.å.) för att komplettera med resultat för hästar som sålts utomlands eller tävlats av ryttare som ej löst tävlingslicens i SvRF.

3.1.3 Genotypdata

Genotyper för samtliga hästar fanns tillgängliga från tidigare studier i samma projekt. Genotyperna var analyserade med ett SNP-chip för 670 tusen markörer. Efter kvalitetskontroll fanns fortfarande samtliga 380 hästar representerade med 242,396 SNPs från de ursprungliga 606,287 (Ablondi et al. 2019a). Av dessa SNPs var 6608 stycken belägna på eller i närheten av de nitton gener som hos människa ger EDS.

3.2 Associationsstudie

För att analysera fenotyp- och genotypdata användes genanalysprogrammet plink (Purcell et al. 2007). Plink har kapacitet att analysera stora mängder data på kort tid. Genom kommandotolken skrivs koden som dirigerar programmet till vilka undersökningar och referensramar som gäller för valda data. P-värde sattes till $7,9 * 10^{-6}$ (0,05/6363). Ett associationstest gjorde sedan med de hälsodata som hade variation från djurägarintervjuerna, där frågor som besvarats unisont uteslöts. Resultaten korrigerades med Bonferoni för att generera justerade p-värden. En linjär regression gjordes för tävlingsdata där förmodad stratifiering på grund av släktskap kompenserades för genom kovarians baserat på härstamning.

Signifikanta SNPs kontrollerades sedan mot referensgenom EquCab3 för att undersöka gentillhörighet (Ensembl u.å.). Generna jämfördes sedermera mot mus- och humangenom för att undersöka eventuell känd effekt av gen mot de observerade fenotyperna. För detta användes hemsidan g:Profiler (Kolberg et al. 2023) som är baserad på flera gendatabaser.

För signifikanta SNPs undersöktes variation i haplotyp genom att lista samtliga haplotyper efter *minor allele*.

3.2.1 Genotypdata

SNP-data från områden kring de nitton generna som hos människa ger EDS $\pm 500\text{kb}$ fanns tillgängliga från en tidigare studie i samma forskningsprojekt. Denna data

genomgick ytterligare en kvalitetskontroll med avsikt att utesluta SNPs som ej är statistiskt användbara. Kvalitetskontrollen innefattade avsaknad av gener för SNP samt individ, för att säkerställa att tillräckligt många SNP finns representerade för samtliga individer. *Minor allele frequency* (MAF), som syftar till att ta bort alltför ovanliga alleler inom patienten. *Hardy-Weinberg equilibrium* (HWE), för att undersöka om allelfrekvensen inom populationen följer den förväntade.

3.2.2 Fenotypdata

Intervjusvar

Samtliga svar samlades i Excel-dokument. De första två kolumnerna avser familjens respektive individens ID. Svaren omarbetades sedan till numeriska arbetsblad där 1 motsvarar ”ja”, 2 motsvarar ”nej” och 0 eller -9 motsvarar ”vet ej” eller ”avsaknad”. Filen transkriberades sedan till tabavgränsad textfil som kan läsas av plink.

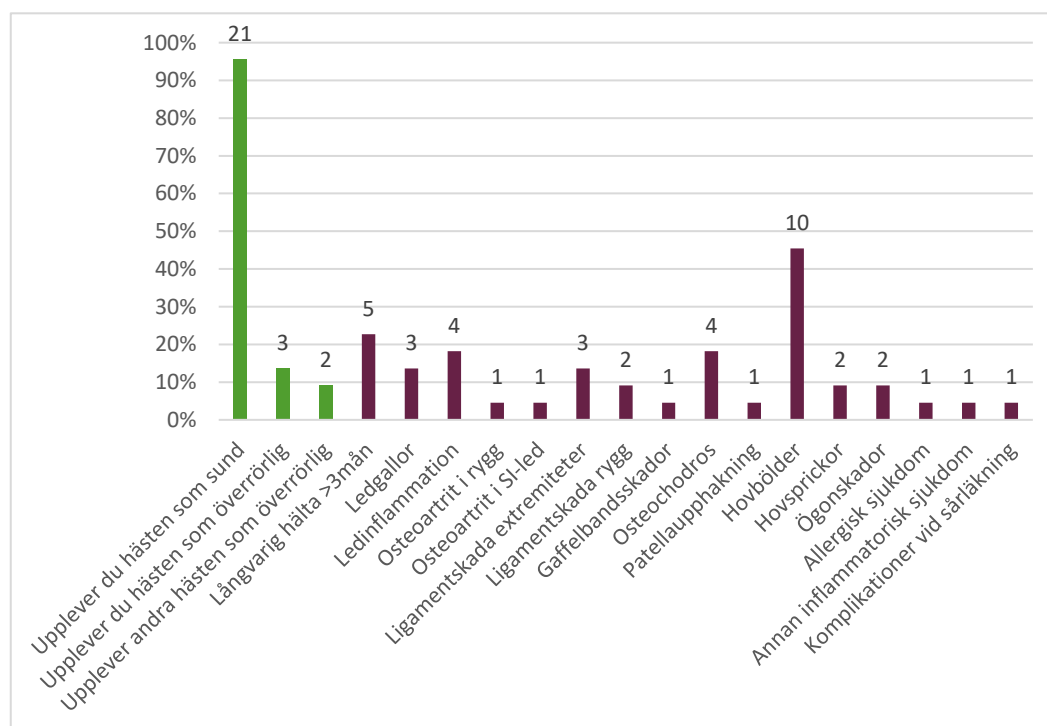
Tävlingsresultat

Information om vilken tävlingsnivå varje häst tävlat på inom respektive gren (dressyr, fälttävlan och hoppning) sammanställdes i en Excel-fil. Filen transkriberades sedan till tabavgränsad textfil som kan läsas av plink.

4. Resultat

4.1 Intervju

Kontaktuppgifter till ägare av 51 hästar (13 %) av genotypad population, fanns offentligt tillgängliga. Av dessa ställde ägare för 22 hästar (6 %) upp på intervju. Alla intervjudeltagare svarade på samtliga frågor. Fyra av de tillfrågade var tidigare ägare och svarade efter förmåga då nuvarande ägare inte gick att nå. Dessa hästar hade bytt ägare för mellan ett och fem år sedan. I figur 1 visas svarsfördelning för de intervjufrågor där svaren varierade.

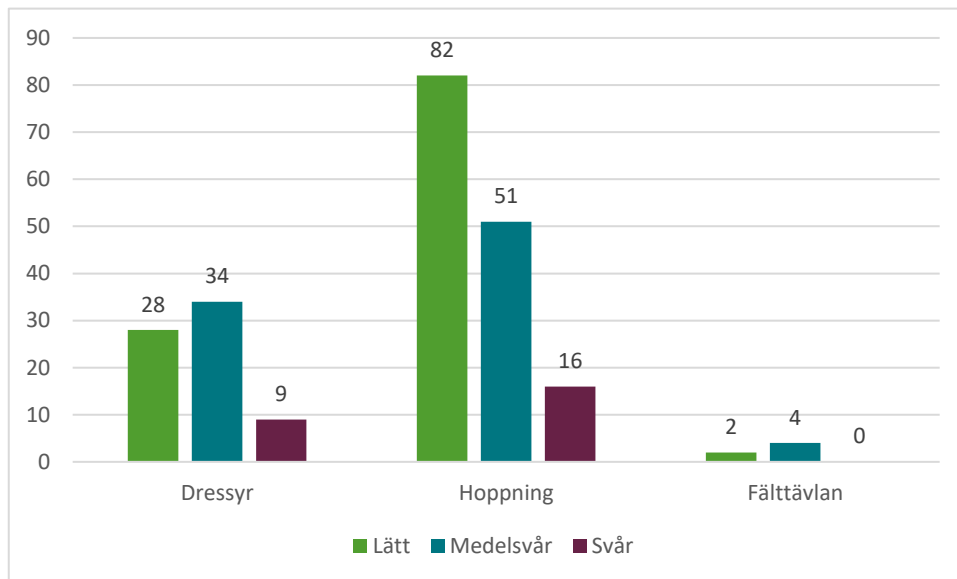


Figur 1. Antal av de tillfrågade som svarat ja på respektive fråga. Y-axeln visar andel av de tillfrågade. Gröna staplar representerar subjektiva svar. Lila staplar representerar av veterinär diagnosticerade åkommor.

4.2 Tävlingsresultat

Tävlingsresultat fanns registrerade i TDB för 251 hästar (66 %) av undersökt population. Efter sökning av resultat på internationella databaser (FEI Database u.å.; HorseTelex u.å.) korrigerades arton av resultaten på grund av uppdaterad tävlingsnivå och ytterligare resultat från annat land till och med 9 okt 2022 lades till.

Flest hästar hade resultat i hoppning (n=149) fördelat på 82 i lätt klass, 52 i medelsvår och sexton i svår klass. Inom dressyr hade 70 hästar resultat (n=70), varav 28 i lätt klass, 34 i medelsvår och nio i svår klass. Fem hästar hade resultat i fälttävlan (n=5) fördelat på två i lätt klass och fyra i medelsvår. Tretton hästar hade resultat i fler än en disciplin. För 27 av hästarna fanns enbart information om antal starter och ej om vilken nivå de tävlat. Antal hästar med resultat i respektive nivå och disciplin redovisas i figur 2.



Figur 2. Antal hästar i populationen som har resultat i lätt, medelsvår och svår klass i respektive disciplin.

4.3 Genotyper

SNPs från de nitton kända generna relaterade till EDS $\pm 500\text{kb}$ analyserades i plink (Purcell et al. 2007). Kvalitetskontroll genomfördes och data rensades baserat på följande kriterier: minor allele frequency $<0,01$, avsaknad av genotyp per SNP $>0,10$, avsaknad av genotyp per individ $>0,10$ samt Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) $<0,0001$. SNP call rate var 0.987862 (99 %). Totalt rensades 245 varianter bort på grund av avsaknad av genotyp per SNP, vilket lämnade 6363 varianter och 380 individer efter kvalitetskontrollen.

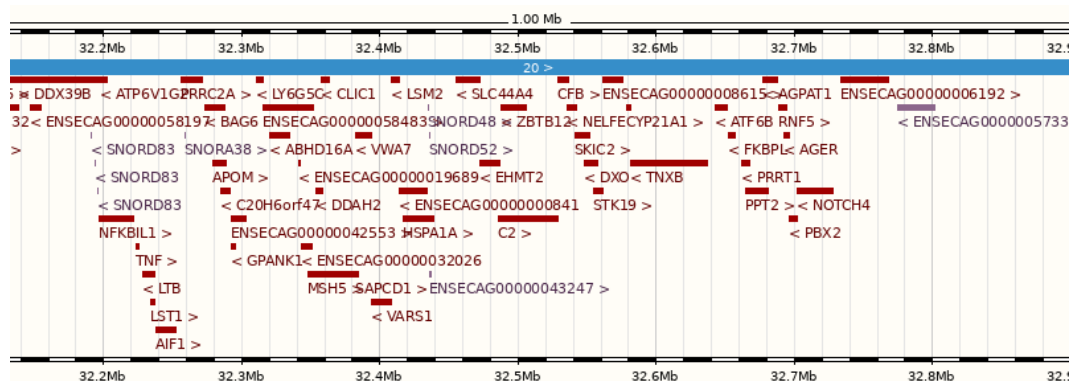
4.4 Associationstest

Signifikant association mellan fenotyper och generna kring EDS-generna med p-värden $<7,9 * 10^{-6}$ sågs för tre fenotyper. De signifikanta värdena representerar hälsoegenskaperna: annan inflammatorisk sjukdom, patellaupphakning samt kom-

plikationer vid sårsläkning, se tabell 3. Fenotyperna korrelerar med 41 olika SNPs, se bilaga 2, samtliga lokaliserade på kromosom 20 (ECA20), se figur 4. Lokalisationen för de signifikanta SNPs är inom regionen 500kb före och efter den undersökta genen tenascin XB, se figur 3. Totalt innehåller det aktuella SNP-chipet 1853 SNPs i regionen. Majoriteten av varianterna var inom intron av transskript (55 %). Resterande varianter var inom 5' (17 %) respektive 3' (5 %) untranslated region (UTR), nedströms från gener (5 %), mellan gener (7 %). Av varianterna var lika många synonyma mutationer som missensemutationer (7 %).

Tabell 3. Signifikant representerade fenotyper med respektive Bonferoni-korrigerat signifikansvärde.

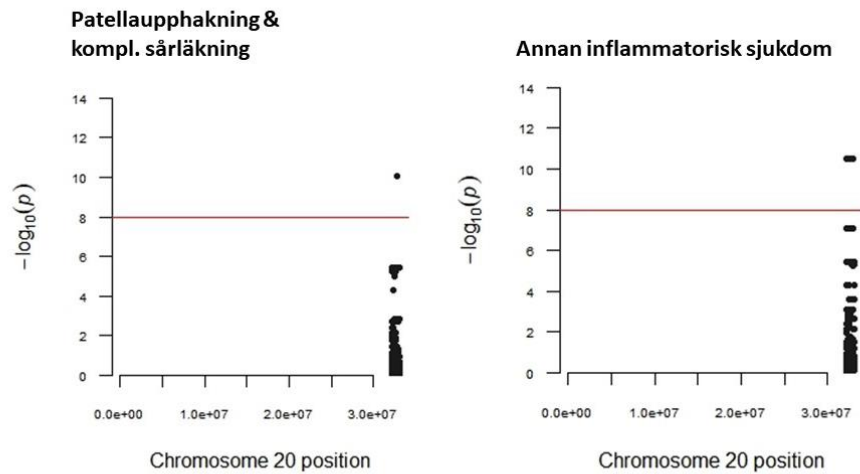
Fenotyp	Bonferoni p-värde	SNP
Annan inflammatorisk sjukdom	1.545e-07	n=40
Patellaupphakning	4.295e-07	MNEc.2.20.31810903.PC
Komplikationer vid sårsläkning	4.295e-07	MNEc.2.20.31810903.PC



Figur 3. Område på kromosom 20 var signifikanta SNPs påvisats. Röd markering och text motsvarar proteinkodande gener och position. Lila markering och text RNA-kodande gener och position.

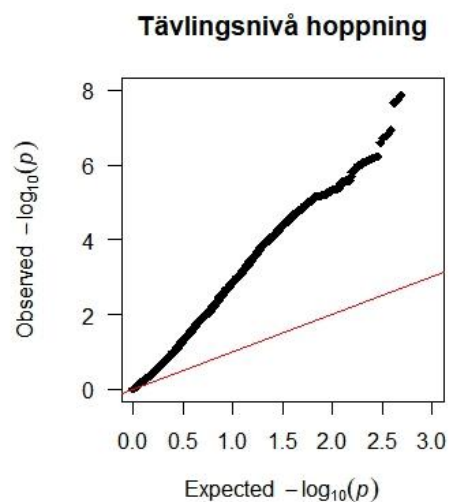
De signifikanta SNPs återfinns bland annat i generna tenascin XB (TNXB), SKI2 subunit of superkiller complex (SKIC2) och lymfocyt antigen 6 complex (Ly6g5b), se bilaga 3. Området ligger inom ett av de så kallade histokompatibilitetskomplexen, nämligen *Major Histocompatibility complex* klass III (MHCIII) (Miller 2021).

Den individ som representerar signifikansen för annan inflammatorisk sjukdom är den enda individen som är homozygot för minor allele för 39 av de 40 korrelerade SNPs.

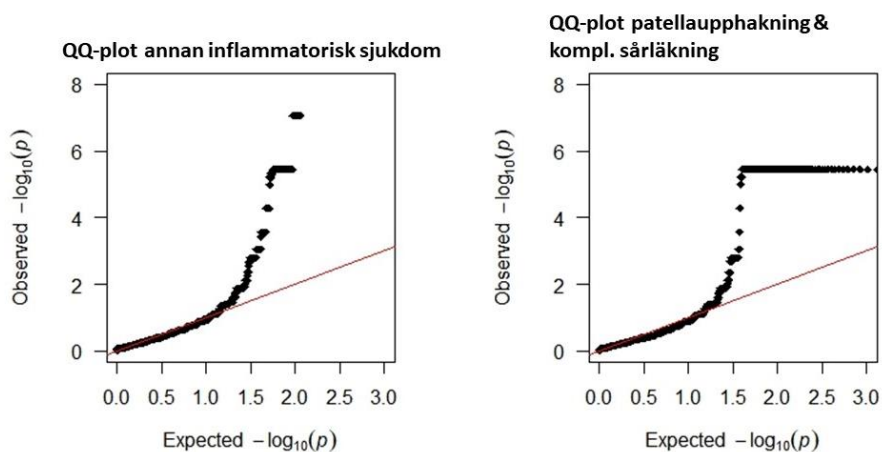


Figur 4. Manhattan-grafer. Svart prick motsvarar SNP-position och p-värde på kromosom 20 för fenotyperna patellaupphakning, komplikationer vid sår läkning samt annan inflammatorisk sjukdom. Röd linje representerar p-värde.

Trots att grupptillhörighet kompenseras för vid den linjära regressionen erhöles förhöjt λ -värde för tävlingsresultat i hoppning vilket tyder på att det föreligger stratifiering inom populationen. Detta förefaller inte vara fallet för de tre hälsoegenskaperna se figur 5 och 6. QQ-graferna visualiserar hur p-värdet från den aktuella studien för hälsoegenskaper följer det förväntade p-värdet under nollhypotesen till skillnad från tävlingsresultat i hoppning där det observerade p-värdet tydligt avviker tidigt från förväntad linje.



Figur 5. QQ-graf för tävlingsnivå i hoppning efter linjär regression. De svarta prickarna motsvarar de observerade p -värdena och hur de avviker från ett förväntat utfall som illustreras av den röda linjen.



Figur 6. QQ-grafer för fenotyperna annan inflammatorisk sjukdom, patellaupphakning och komplikationer vid sårhäkning. Svarta prickar motsvarar observerade p -värden. Röd linje motsvarar förväntat p -värde.

5. Diskussion

Denna studie syftade till att undersöka korrelation mellan skade- och tävlingshistorik och gener som ger EDS hos människa genom att undersöka om hästar som har varianter av dessa gener är utsatta för skador som kan härledas till kollagen-defekter i större omfattning samt undersöka deras tävlingsresultat. Dessvärre erhöles endast en liten andel (6 %) intervjusvar från den genotypade populationen. Den låga svarsfrekvensen från en relativt liten population sänker sannolikheten att resultaten skulle vara representativa för populationen. En utökad intervju där man når ut till fler hästägare samt med tydligare diagnostiska frågeställningar skulle öka trovärdigheten för resultatet.

5.1 Patologi

I denna studie påvisades dock signifikant korrelation mellan tre hälsoegenskaper och flera undersökta SNPs. Fenotyperna patellaupphakning, komplicerad sårläggning och annan inflammatorisk sjukdom korrelerade med 41 SNPs i kromosom 20. Tre av dessa SNPs är belägna inom genen TNXB som är en diagnostisk pusselbit till kEDS (Malfait et al. 2017).

Viktigt att nämna är att GWAS-resultat enligt Dehghans bör tolkas med försiktighet (2018). De nämner i sitt kapitel om GWAS i boken *Genetic Epidemiology: Methods and Protocols* att de SNPs som identifieras oftast inte är den funktionella varianten utan snarare fungerar som en markör för området som orsakar sjukdom. Också den aspekten att antalet intervjusvar som låg till grund för signifikansen för andra inflammatoriska sjukdomar var få till antalet, endast en tillfrågad svarade ja på frågan, är en anledning till att tolka resultaten med försiktighet.

TNXB är belägen inom histokompatibilitetskomplex klass III (MHCIII), en region i genomet som innehåller många gener som är viktiga för det specifika immunsvaret (Gruen & Weissman 2001). Inom MHCIII återfinns bland annat flertalet gener som kodar för komplementsfaktorer, proteiner som ingår i komplementsystemet, som är en viktig del i immunförsvaret. Regionen är i stark linkage disequilibrium, det vill säga att alleler i området nedärvs i långa haplotyper (Miretti et al. 2005). Att vi påvisat variation i regionen som korrelerar med inflammatorisk sjukdom och att även flera SNPs i området saknar signifikans kan vara en ledtråd mot att en särskild haplotyp i området för MHCIII kan ses i samband med inflammatorisk sjukdom.

Att endast känna till skadehistoriken för 6 % av studiepopulationen är en starkt begränsande faktor i denna studie. Det var svårt att få kontaktuppgifter till djur-

ägare. Djurägarregister finns hos SWB men restriktioner kring delning av dessa på grund av GDPR försenade arbetet. Att endast intervjua hästägare för vilka kontaktuppgifter fanns offentligt tillgängliga har troligt påverkat resultatet starkt. Denna metod medförde att de tillfrågade till stor andel var yrkesmässiga hästägare och ägare till hobbyhästar är i minoritet i underlaget. Genom att i samarbete med SWB få kontaktuppgifter till en större andel av populationen kunde man nå ut till fler av de genotypade hästarna och därigenom nå mer pålitliga resultat.

5.2 Tävlingsresultat

Något tydligt samband mellan prestationsnivå och kandidatgenerna kunde inte fastställas i denna studie. Det är sedan tidigare känt att gener korrelerade till EDS, närmare bestämt *PLOD1*, har samband med hur väl halvblodshästar lämpar sig för sport, i synnerhet dressyr (Metzger et al. 2021; Ablondi et al. 2022). I denna studie kunde *PLOD1* inte kopplas till ökad prestation i dressyr. Det kan förklaras av att denna studie har undersökt det direkta sambandet med prestationsnivå till skillnad från de tidigare studierna där EBV studerats och samband påvisats med flera, inom dressyr och hoppning, eftertraktade egenskaper. Vilken nivå hästen tävlar på påverkas inte bara av vilka egenskaper den besitter.

Baserat på aktuellt underlag har korrelation mellan de undersökta generna och tävlingsnivå inom de stora ridsportsdisciplinerna hoppning, dressyr och fälttävlan inte kunnat påvisas. Däremot kunde en stratifiering inom subpopulationen hopphästar påvisas. Subgrupper inom svenska halvblodsaveln har tidigare visats bland annat av Ablondi med flera som studerat samma population som den aktuella studien (2019a). De visade i sin studie genetiska skillnader mellan hästar avlade för dressyr och hoppning och argumenterar för en snabb genetisk förändring då de sett fler långa gensektioner som var under selektion för subpopulationen hopphästar.

För att kompensera för stratifiering inom populationen hade ytterligare arbete behövts för att gruppera populationen mer (Dehghan 2018). Detta hade sannolikt fått som följd att underlaget hade blivit för smalt med bakgrund av lågt deltagande i intervjun och att endast två tredjedelar av individerna hade tävlingsresultat.

Problemet som diskuterades i inledningen angående att det är svårt att få fullständiga data från hästars liv då de ofta flyttar och byter ägare fanns även i denna studie. Endast 66 % av hästarna hade resultat registrerade i TDB. Ytterligare information från samma, men även andra individer gick att finna i andra databaser. Alla databaser innehåller olika data och avkall gjordes därför på många parametrar från den svenska databasen för att kunna inkludera resultat från fler individer. Att endast undersöka uppnådd tävlingsnivå skulle kunna kompletteras med exempelvis antal

år i tävling, erhållna poäng samt antal starter för att få en bättre bild av hur hållbar en individ är i sporten (Jönsson et al. 2014). Det skulle då ge svar på om individen har nått en nivå på kort tid och få antal starter vilket eller tvärt om vilket skulle kunna indikera mer hållbara individer som kan prestera under längre tid. Detta kunde vara genomförbart om ett samarbete mellan nationella och internationella tävlingsförbund kunde implementeras där man kunde harmonisera datainsamlingen.

För att i framtiden fastslå kausala genvarianter för hypermobilitet hos häst krävs en definition av hypermobilitet likt Brightonskalan som används inom humanmedicin (Ghali et al. 2019). Genom att objektivt skilja på mer eller mindre rörliga individer skulle man ytterligare kunna undersöka den genetiska bakgrunden för tillståndet.

Referenser

- Ablondi, M., Eriksson, S., Tetu, S., Sabbioni, A., Viklund, Å. & Mikko, S. (2019a). Genomic divergence in Swedish Warmblood horses selected for equestrian disciplines. *Genes*, 10 (12), 976. <https://doi.org/10.3390/genes10120976>
- Ablondi, M., Johnsson, M., Eriksson, S., Sabbioni, A., Viklund, Å.G. & Mikko, S. (2022). Performance of Swedish Warmblood fragile foal syndrome carriers and breeding prospects. *Genetics Selection Evolution*, 54 (1), 4. <https://doi.org/10.1186/s12711-021-00693-4>
- Ablondi, M., Viklund, Å., Lindgren, G., Eriksson, S. & Mikko, S. (2019b). Signatures of selection in the genome of Swedish warmblood horses selected for sport performance. *BMC Genomics*, 20 (1), 717. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6079-1>
- Aicale, R., Tarantino, D. & Maffulli, N. (2018). Overuse injuries in sport: a comprehensive overview. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 13 (1), 309. <https://doi.org/10.1186/s13018-018-1017-5>
- Aurich, C., Müller-Herbst, S., Reineking, W., Müller, E., Wohlsein, P., Gunreben, B. & Aurich, J. (2019). Characterization of abortion, stillbirth and non-viable foals homozygous for the Warmblood Fragile Foal Syndrome. *Animal Reproduction Science*, 211, 106202. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106202>
- van den Berg, S., Vandenplas, J., van Eeuwijk, F.A., Lopes, M.S. & Veerkamp, R.F. (2019). Significance testing and genomic inflation factor using high-density genotypes or whole-genome sequence data. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 136 (6), 418–429. <https://doi.org/10.1111/jbg.12419>
- Bonow, S., Eriksson, S., Hellsten, E.T. & Viklund, A.G. (2023). Consequences of specialized breeding in the Swedish Warmblood horse population. *Journal of Animal Breeding And Genetics*, 140 (1), 79–91. <https://doi.org/10.1111/jbg.12731>
- Braam, A., Nasholm, A., Roepstorff, L. & Philipsson, J. (2011). Genetic variation in durability of Swedish Warmblood horses using competition results. *Livestock Science*, 142 (1–3), 181–187. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.07.011>
- Coussens, M., Calders, P., Lapauw, B., Celie, B., Banica, T., De Wandele, I., Pacey, V., Malfait, F. & Rombaut, L. (2021). Does muscle strength change over time in patients with hypermobile Ehlers-Danlos syndrome/hypermobility spectrum disorder? An eight-year follow-up study. *Arthritis Care & Research*, 73 (7), 1041–1048. <https://doi.org/10.1002/acr.24220>

- Dehghan, A. (2018). Genome-Wide Association Studies. I: Evangelou, E. (red.) *Genetic Epidemiology: Methods and Protocols*. Springer. 37–49. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7868-7_4
- Dickin, D.C. & Doan, J.B. (2008). Postural stability in altered and unaltered sensory environments following fatiguing exercise of lower extremity joints. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 18 (6), 765–772. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2007.00760.x>
- Egenvall, A., Penell, J.C., Bonnett, B.N., Olson, P. & Pringle, J. (2006). Mortality of Swedish horses with complete life insurance between 1997 and 2000: variations with sex, age, breed and diagnosis. *Veterinary Record*, 158 (12), 397–406. <https://doi.org/10.1136/vr.158.12.397>
- Ensembl (u.å.). *Horse (Equus caballus)*. Ensembl genome browser 110. https://www.ensembl.org/Equus_caballus/Info/Index?db=core;r=20:32689216-32689217 [2023-12-14]
- FEI Database (u.å.). *Horse Search*. <https://data.fei.org/Horse/Search.aspx> [2023-11-27]
- Ghali, N., Sobey, G. & Burrows, N. (2019). Ehlers-Danlos syndromes. *BMJ*, l4966. <https://doi.org/10.1136/bmj.l4966>
- Gruen, J.R. & Weissman, S.M. (2001). Human MHC class III and IV genes and disease associations. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, 6, D960-972. <https://doi.org/10.2741/gruen>
- HorseTelex (u.å.). *HorseTelex Pedigree*. <https://www.horsetelex.com> [2023-11-27]
- Jönsson, L., Egenvall, A., Roepstorff, L., Näsholm, A., Dalin, G. & Philipsson, J. (2014). Associations of health status and conformation with longevity and lifetime competition performance in young Swedish Warmblood riding horses: 8,238 cases (1983–2005). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 244 (12), 1449–1461. <https://doi.org/10.2460/javma.244.12.1449>
- Kolberg, L., Raudvere, U., Kuzmin, I., Adler, P., Vilo, J. & Peterson, H. (2023). g:Profiler—interoperable web service for functional enrichment analysis and gene identifier mapping (2023 update). *Nucleic Acids Research*, 51 (W1), W207-SW212. <https://academic.oup.com/nar/article/51/W1/W207/7152869> [2023-12-19]
- Leegwater, P.A., Vos-Loohuis, M., Ducro, B.J., Boegheim, I.J., van Steenbeek, F.G., Nijman, I.J., Monroe, G.R., Bastiaansen, J.W.M., Dibbits, B.W., van de Goor, L.H., Hellings, I., Back, W. & Schurink, A. (2016). Dwarfism with joint laxity in Friesian horses is associated with a splice site mutation in B4GALT7. *BMC Genomics*, 17 (1), 839. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3186-0>
- Malfait, F., Francomano, C., Byers, P., Belmont, J., Berglund, B., Black, J., Bloom, L., Bowen, J.M., Brady, A.F., Burrows, N.P., Castori, M., Cohen, H., Colombi, M., Demirdas, S., De Backer, J., De Paepe, A., Fournel-Gigleux, S., Frank, M., Ghali, N., Giunta, C., Grahame, R., Hakim, A., Jeunemaitre, X., Johnson, D., Juul-Kristensen, B., Kapferer-Seebacher, I., Kazkaz, H., Kosho, T., Lavalley, M.E., Levy, H., Mendoza-Londono, R., Pepin, M., Pope, F.M., Reinstein, E., Robert, L., Rohrbach, M., Sanders, L., Sobey, G.J., Van Damme, T., Vandersteen, A., van Mourik, C., Voermans, N., Wheeldon, N., Zschocke, J. & Tinkle, B. (2017). The 2017

- international classification of the Ehlers–Danlos syndromes. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*, 175 (1), 8–26.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31552>
- Metzger, J., Kreft, O., Sieme, H., Martinsson, G., Reineking, W., Hewicker-Trautwein, M. & Distl, O. (2021). Hanoverian F/W-line contributes to segregation of Warmblood fragile foal syndrome type 1 variant PLOD1:c.2032G>A in Warmblood horses. *Equine Veterinary Journal*, 53 (1), 51–59. <https://doi.org/10.1111/evj.13271>
- Miller, W.L. (2021). Tenascin-X—discovery and early research. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.612497> [2023-12-21]
- Miretti, M.M., Walsh, E.C., Ke, X., Delgado, M., Griffiths, M., Hunt, S., Morrison, J., Whittaker, P., Lander, E.S., Cardon, L.R., Bentley, D.R., Rioux, J.D., Beck, S. & Deloukas, P. (2005). A high-resolution linkage-disequilibrium map of the human major histocompatibility complex and first generation of tag single-nucleotide polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 76 (4), 634–646.
<https://doi.org/10.1086/429393>
- Monthoux, C., de Brot, S., Jackson, M., Bleul, U. & Walter, J. (2015). Skin malformations in a neonatal foal tested homozygous positive for Warmblood Fragile Foal Syndrome. *BMC Veterinary Research*, 11 (1), 12.
<https://doi.org/10.1186/s12917-015-0318-8>
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A.R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P.I.W., Daly, M.J. & Sham, P.C. (2007). PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetics*, 81 (3), 559–575
- Ricard, A. & Blouin, C. (2011). Genetic analysis of the longevity of French sport horses in jumping competition. *Journal of Animal Science*, 89 (10), 2988–2994.
<https://doi.org/10.2527/jas.2011-3931>
- Rombaut, L., De Paepe, A., Malfait, F., Cools, A. & Calders, P. (2010). Joint position sense and vibratory perception sense in patients with Ehlers–Danlos syndrome type III (hypermobility type). *Clinical Rheumatology*, 29 (3), 289–295.
<https://doi.org/10.1007/s10067-009-1320-y>
- Rombaut, L., Malfait, F., De Wandele, I., Mahieu, N., Thijs, Y., Segers, P., De Paepe, A. & Calders, P. (2012a). Muscle–tendon tissue properties in the hypermobility type of Ehlers–Danlos syndrome. *Arthritis Care & Research*, 64 (5), 766–772.
<https://doi.org/10.1002/acr.21592>
- Rombaut, L., Malfait, F., De Wandele, I., Taes, Y., Thijs, Y., De Paepe, A. & Calders, P. (2012b). Muscle mass, muscle strength, functional performance, and physical impairment in women with the hypermobility type of Ehlers–Danlos syndrome. *Arthritis Care & Research*, 64 (10), 1584–1592. <https://doi.org/10.1002/acr.21726>
- Sjaastad, Ø.V. (2016). *Physiology of Domestic Animals*. 3. ed. Scandinavian Veterinary Press.
- Tinkle, B., Castori, M., Berglund, B., Cohen, H., Grahame, R., Kazkaz, H. & Levy, H. (2017). Hypermobility Ehlers–Danlos syndrome (a.k.a. Ehlers–Danlos syndrome Type

- III and Ehlers–Danlos syndrome hypermobility type): Clinical description and natural history. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*, 175 (1), 48–69. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31538>
- Wallin, L., Strandberg, E. & Philipsson, J. (2001). Phenotypic relationship between test results of Swedish Warmblood horses as 4-year-olds and longevity. *Livestock Production Science*, 68 (2), 97–105. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(00\)00244-X](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(00)00244-X)
- Winand, N.J., *Identification of the causative mutation for inherited connective tissue disorders in equines and methods for testing for same*. US20140186835A1. (2014). <https://patents.google.com/patent/US20140186835A1/en> [2023-10-27]
- Wobbe, M., Reinhardt, F., Reents, R., Tetens, J. & Stock, K.F. (2022). Quantifying the effect of Warmblood Fragile Foal Syndrome on foaling rates in the German riding horse population. *PLOS ONE*, 17 (7), e0267975. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267975>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Många av kroppens organ består av bindväv i olika utsträckning. Bindväven finns där för att ge stabilitet och överföra krafter när kroppen rör sig. Skador i bindväven kallas för kollagendysplasier om de har en genetisk bakgrund. Hos människa samlas sådana skador under paraplybegreppet Ehlers-Danlos Syndrom (EDS). Liknande skador finns även hos våra hus- och produktionsdjur.

Det är sedan tidigare känt att mutationer i samma gener som hos människa orsakar EDS även orsakar sjukdom hos bland annat hästar. Studier har visat att hästar som bär på sådana gener är överrepresenterade bland hästar som är avsedda att tränas och tävlas i dressyr. Som exempel orsakar en mutation i genen *PLOD1* en typ av sjukdom som karaktäriseras av överrörliga leder och skör hud. Mutationer i samma gen hos häst ger liknande attribut och de hästarna föds ofta döda eller avlivs i tidigt skede.

Denna studie har undersökt om hästar får fler liknande skador som människor av mutationer i generna i fråga samt om hästar som bär på dessa mutationer presterar bättre eller sämre i sporten. Genom att intervjua ägare till hästar som sedan tidigare är genotypade få reda på hästarnas skadehistorik. Jämföra intervjuresultaten samt tävlingsresultat med gendata kunde det påvisas att det finns ett visst samband mellan skadehistorik och generna som hos människa ger EDS.

Resultaten pekar på att det verkar finnas samband mellan sjukdomarna patellaupphakning, komplicerad sårläkning och annan inflammatorisk sjukdom hos häst och EDS-generna. Gruppen som resultaten baseras på är dock liten och urvalet är inte helt representativt för den stora populationen så slutsatser ska dras med försiktighet. Ytterligare studier behövs för att verifiera fynden och för att vidare undersöka vilken effekt det har på hästarnas hälsa och prestation.

Tack

Jag vill rikta ett särskilt stort tack till min livspartner Maja. Utan dig hade jag aldrig klarat mig så här långt. Du är min ledstjärna i livet.

Tack till min samarbetspartner Emma Lindqvist, handledare Sofia Mikko och examinator Anna Bergh. Tack också till Åsa Gelinder Viklund som försett mig med värdefulla data.

Bilaga 1

Bakgrundsdata:
Hästnamn:
Registreringsnr (Anges utan blanksteg, tex: 12345678):
Fader:
Moder:
Födelseår:
Kön:
Ägare:
Hur länge har nuvarande ägare ägt hästen?:
Antal ägare innan:
Datum:
Evaluator:
Intervjuobjekt
Djurägarintervju:
Huvudsaklig tränings-/tävlingsdisciplin (D/H/F/Ö):
Träningsintensitet (L=1-2, M=3-4, H=5-6 d/v)
Är hästen sund? (Ja/Nej/Vet ej)
Musculoskeletal smärta i två eller fler ben, eller vandrande smärta, senaste 3 månaderna
Fick hästen höga poäng vid 3-årstest? (Ja/Nej/Vet ej)
Har hästen haft patellaupphakning? (Ja/Nej/Vet ej)
Upplever du hästen som överrörig? (Ja/Nej/Vet ej)
Upplever andra hästen som överrörig? (Ja/Nej/Vet ej)
Om ja, vem?
Har hästen haft problem med tandträngning? (Ja/Nej/Vet ej)
Har hästen haft tandlossning, EORTH (Ja/Nej/Vet ej)
High or narrow palate
Känd skadehistorik veteinärbedömd (Ja/Nej/Vet ej)(antal ggr i rad under):
Ledgallor
Ledinflammation
Artros i benens leder
Artros i nacke/bröstrygg

Artros i SI-led
Ligamentskada i ben
Ligamentskada i rygg
Skada gaffelband
Senskada böjsenor
Senkontraktur
Skada till peroneus tertius
Osteochondros
Frakturer/fissurer i revnben
Patellaluxation
Inguinalbråck
Umbilikalbråck
Diafragmabråck
Bockhov
Hovböld
Hovsprickor
Bärrandsröta
Aorta aneurysm
Ögonskador
Allergisk sjukdom
Annan inflammatorisk sjukdom
Komplikationer vid sårhäkning
Övriga upplysningar om hästens hälostatus:

Bilaga 2

Signifikanta SNP			
Annan inflammatorisk sjukdom			
CHR	SNP	Konsekvens	Bonferoni p-värde
20	MNEc.2.20.31269755.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31288124.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31296864.PC	3'UTR	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31319184.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31320351.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31337432.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31339178.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31344080.PC	synonym	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31405258.PC	synonym	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31407550.PC	downstream gene variant	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31408547.PC	synonym	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31416014.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31431147.PC	5'UTR	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31456336.PC	5'UTR	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31464567.PC	missense	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31471899.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31510078.PC	5'UTR	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31537446.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31557615.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31558348.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31568526.PC	5'UTR	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31581625.PC	intergenic variant	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31648312.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31662442.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31678431.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31700671.PC	missense	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31717755.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31731473.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31760796.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31801022.PC	5'UTR	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31817028.PC	missense	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31825301.PC	5'UTR	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31825765.PC	5'UTR	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31826594.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31833922.PC	3'UTR	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31923445.PC	intron	1.545e-07

20	MNEc.2.20.31930618.PC	intron	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31948432.PC	intergenic variant	1.545e-07
20	MNEc.2.20.31990908.PC	intergenic variant	1.545e-07
20	MNEc.2.20.32028459.PC	downstream gene variant	1.545e-07
Patellaupphakning			
CHR	SNP		Bonferoni p-värde
20	MNEc.2.20.31810903.PC	intron	4.295e-07
Komplicerad sårläkning			
CHR	SNP		Bonferoni p-värde
20	MNEc.2.20.31810903.PC	intron	4.295e-07

Bilaga 3

Gen i Ensemble	Ortholog	Beskrivning
ENSECAG00000000841	<i>Hspa1l</i>	heat shock protein 1-like
ENSECAG00000001037	<i>Hspa1b</i>	heat shock protein 1B
ENSECAG00000003887	<i>Pbx2</i>	pre B cell leukemia homeobox 2
ENSECAG00000004709	<i>C2</i>	complement component 2 (within H-2S)
ENSECAG00000007750	<i>Ddx39b</i>	DEAD box helicase 39b
ENSECAG00000008615	<i>C4b</i>	complement component 4B (Chido blood group)
ENSECAG00000011024	<i>Prmt1</i>	proline-rich transmembrane protein 1
ENSECAG00000011854	<i>Cfb</i>	complement factor B
ENSECAG00000012274	<i>Nelfe</i>	negative elongation factor complex member E, Rdbp
ENSECAG00000012302	<i>NOTCH4</i>	notch receptor 4
ENSECAG00000013260	<i>Bag6</i>	BCL2-associated athanogene 6
ENSECAG00000013375	<i>Abhd16a</i>	abhydrolase domain containing 16A
ENSECAG00000014481	<i>Agpat1</i>	1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase 1 (lysophosphatidic acid acyltransferase, alpha)
ENSECAG00000014620	<i>Vars</i>	valyl-tRNA synthetase
ENSECAG00000015693	<i>Rnf5</i>	ring finger protein 5
ENSECAG00000015824	<i>Apom</i>	apolipoprotein M
ENSECAG00000016208	<i>Cyp21a1</i>	cytochrome P450, family 21, subfamily a, polypeptide 1
ENSECAG00000016698	<i>Tsbp1</i>	testis expressed basic protein 1
ENSECAG00000017868	<i>Ppt2</i>	palmitoyl-protein thioesterase 2
ENSECAG00000019093	<i>Gpank1</i>	G patch domain and ankyrin repeats 1
ENSECAG00000019689	<i>Ly6g6e</i>	lymphocyte antigen 6 complex, locus G6E
ENSECAG00000020118	<i>Msh5</i>	mutS homolog 5
ENSECAG00000020637	<i>Prrc2a</i>	proline-rich coiled-coil 2A
ENSECAG00000020819	<i>Ager</i>	advanced glycosylation end product-specific receptor
ENSECAG00000021823	<i>Skic2</i>	SKI2 subunit of superkiller complex
ENSECAG00000024491	<i>Stk19</i>	serine/threonine kinase 19
ENSECAG00000025009	<i>Nfkbil1</i>	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B cells inhibitor like 1
ENSECAG00000025364	<i>Gm25744</i>	predicted gene, 25744

ENSECAG00000026567	<i>Snord52</i>	small nucleolar RNA, C/D box 52
ENSECAG00000035532	<i>HLA-A</i>	major histocompatibility complex, c
ENSECAG00000038641	<i>D17H6S53 E</i>	DNA segment, Chr 17, human D6S53E
ENSECAG00000038712	<i>Tnxb</i>	tenascin XB
ENSECAG00000039366	<i>Atp6v1g2</i>	ATPase, H ⁺ transporting, lysosomal V1 subunit G2
ENSECAG00000042553	<i>Ly6g5b</i>	lymphocyte antigen 6 complex, locus G5B
ENSECAG00000043247	<i>N/A</i>	N/A
ENSECAG00000050186	<i>N/A</i>	N/A
ENSECAG00000057333	<i>N/A</i>	N/A
ENSECAG00000058197	<i>N/A</i>	N/A
ENSECAG00000058483	<i>LY6G6F</i>	lymphocyte antigen 6 family member

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. **Som student äger du upphovsrätten** till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Även om du inte publicerar fulltexten kommer den arkiveras digitalt. Om fler än en person har skrivit arbetet gäller krysset för samtliga författare. Läs om SLU:s publiceringsavtal här:

- <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

☒ JA, jag ger härmed min tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

☐ NEJ, jag ger inte min tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.