



Identifiering av genetiska riskfaktorer för trampdynehyperkeratos hos tysk schäferhund

Linnea Björndahl

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet
Uppsala 2026



Identifiering av genetiska riskfaktorer för trampdynehyperkeratos hos tysk schäferhund

Identification of genetic risk factors for footpad hyperkeratosis in German Shepherd

Linnea Björndahl

Handledare:	Göran Andersson, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens biovetenskaper
Bitr. handledare:	Kerstin Bergvall, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper
Examinator:	Sofia Mikko, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens biovetenskaper
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:	2026
Upphovsrätt:	Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.
Nyckelord:	trampdynehyperkeratos, keratinisering, tysk schäfer, mutation

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Trampdynehyperkeratos har kliniskt karaktäriserats hos fem hundraser: kromfohrländer, rottweiler, irländsk terrier, norfolk terrier och dogue de bordeaux. Hos samtliga av dessa hundraser har sjukdomen kunnat konstateras vara av genetiskt ursprung. Den kliniska bilden hos dessa hundraser varierar från milda symtom såsom förtjockade trampdynor till mer allvarliga symtom såsom lesioner, blödningar i trampdynorna och smärtorsakad hälta.

Denna sjukdom har nu även diagnosticerats hos två hundar av rasen tysk schäfer, som tidigare inte identifierats vara drabbad av sjukdomen. Dessa två hundar är halvbröder med olika mödrar men gemensam fader. Föräldradsjuren och kullsyskonen till de insjuknade hundarna är kliniskt fria från sjukdomen. Gemensamma symtom för de två schäferhundarna är förtjockade trampdynor samt fissurer i dessa. Fissurerna kan ibland vara blödande. Båda hundarna uppvisar tecken på smärta från tassarna i form av ovilja att stödja och gå på dessa samt hälta.

Det saknas idag kunskap om trampdynehyperkeratos hos tyska schäfrar då denna ras tidigare inte varit drabbad av sjukdomen. Med anledning av detta är syftet med denna studie att undersöka huruvida denna förekomst av trampdynehyperkeratos hos tyska schäfrar är orsakad av två av de tidigare identifierade kausala genetiska varianterna i generna *FAM83G* och *DSG1*. Resultat från denna kandidatgen-studie visar att de insjuknade hundarna innehar vildtyp-varianterna för båda dessa gener. Detta innebär att de tidigare identifierade genetiska varianterna i generna *FAM83G* och *DSG1* inte förekommer hos de två insjuknade tyska schäferhundarna.

Ytterligare två genetiska varianter har tidigare identifierats som kausala till trampdynehyperkeratos hos hund av raserna norfolk terrier och dogue de bourdeaux. Dessa genetiska varianter förekommer i generna *KRT10* och *KRT16*. Vidare förekommer även ytterligare flertalet genetiska varianter bakom motsvarande sjukdom hos människa, palmopplantar keratoderma. Då denna studie inte kunde påvisa den kausala genetiska varianten bakom trampdynehyperkeratos hos tysk schäfer, är vidare forskning i ämnet nödvändigt. Detta skulle kunna genomföras efter liknande metod som användes i denna studie, alternativt genom helgenomsekvensering.

Nyckelord: trampdynehyperkeratos, keratinisering, tysk schäfer, mutation

Abstract

Footpad hyperkeratosis has successfully been identified in five different dog breeds: Kromfohrländer, Rottweiler, Irish Terrier, Norfolk Terrier and Dogue de Bordeaux. This disease has been ascertained to be of hereditary origin in all affected dog breeds. The disease profile in these dog breeds vary from mild symptoms such as hyperplastic footpads to more severe symptoms such as lesions, bleedings from the footpads and pain-induced limp.

Recently this disease has been diagnosed in two German Shepherds, a breed which has previously been unaffected by this disease. The two affected dogs are half-brothers with different mothers but the same father. The parent dogs and littermates of the two affected dogs are clinically free of the disease. Shared symptoms between the two affected dogs are hyperplastic footpads with fissures, which at times can bleed. Similarly, both dogs show signs of pain from their footpads, which include reluctance to stand on the footpads and properly walk.

There is limited knowledge about footpad hyperkeratosis in German Shepherds in the scientific field today, as this disease had not been identified in this dog breed before. For this reason the purpose of this study is to examine whether or not the occurrence of footpad hyperkeratosis in German Shepherds is caused by two of the already identified genetic variants in the genes *FAM83G* and *DSG1*. The results from this study show that both affected dogs have wildtype-variant for these genes. The indication of these results is that the earlier identified genetic variants within the genes *FAM83G* and *DSG1* are not present in the affected dogs that participated in this study.

Additionally two other causal genetic variants have been linked to footpad hyperkeratosis in dogs, specifically of the breeds Norfolk Terrier and Dogue de Bourdeaux. The genes in which these additional genetic variants are present are *KRT10* and *KRT16*. Furthermore other genetic variants have been identified in the corresponding disease affecting humans, palmoplantar keratoderma. As this study could not specify the causal genetic variant behind footpad hyperkeratosis in German Shepherds, additional research on the subject is necessary. This could be done through similar methods as used in this study, alternatively through whole genome sequencing.

Keywords: footpad hyperkeratosis, keratinisation, German Shepherd, mutation

Innehållsförteckning

1. Introduktion	9
1.1 Syfte	10
2. Litteraturoversikt	11
2.1 <i>FAM83G</i> genvariant hos kromfohrländer och irländsk terrier	11
2.2 <i>DSG1</i> genvariant hos rottweiler	13
2.3 <i>KRT16</i> genvariant hos dogue de bordeaux	14
2.4 <i>KRT10</i> genvariant hos norfolk terrier	16
2.5 Human palmoplantar keratoderma	17
3. Medverkande hundar med trampdynehyperkeratos	23
4. Material och Metod	25
4.1 Hundar i studien	25
4.2 QIASymphony	25
4.3 PCR	25
4.4 Sanger-sekvensering	26
4.5 X-terminator	27
4.6 Kapillärelektrofores	27
5. Resultat	29
5.1 <i>FAM83G</i>	29
5.2 <i>DSG1</i>	29
6. Diskussion	30
6.1 Tolkning av resultat	30
6.2 <i>FAM83G</i> och <i>DSG1</i>	30
6.3 <i>KRT10</i> och <i>KRT16</i>	30
6.4 Helgenomsekvensering gentemot humana genvarianter	31
Referenser	32
Populärvetenskaplig sammanfattning	38

1. Introduktion

Det har tidigare observerats hur fem hundraser är drabbade av fyra olika genetiska genvarianter som medför att drabbade hundar utvecklar en ärftlig form av trampdynehyperkeratos där allvarlighetsgraden i den kliniska bilden varierar. Gemensamt för dessa hundraser där individer har drabbats av denna sjukdom är att trampdynornas hud blir förtjockad. De hundraser som i nuläget bekräftats vara drabbade av ärftlig form av trampdynehyperkeratos är irländsk terrier, kromfohlrländer, rottweiler, dogue de bordeaux och norfolk terrier.

Hos irländsk terrier och kromfohlrländer orsakas detta av ett basparsutbyte i genen *Family With Sequence Similarity 83 Member G (FAM83G)* (Sayyab *et al.* 2016 & Drögemüller *et al.* 2014). Denna mutation medför ett aminosyrautbyte från arginin till prolin, vilket ger en strukturförändring hos det translaterade proteinet som kodas från denna gen, vilket då resulterar i en förändrad funktion hos proteinet (Sayyab *et al.* 2016). Funktionen hos detta protein är i huvudsak att interagera med *Casein Kinase 1 Alpha (CK1-α)* och genom denna interaktion stimulera Wnt-signaler, vilket medför förändrat genuttryck i cellen (Wu *et al.* 2019). Proteinuttrycks huvudsakligen i hudens epidermis (Drögemüller *et al.* 2014). Båda hundraserna har även konstaterats utveckla liknande kliniska symtom vid utveckling av sjukdomen (Drögemüller *et al.* 2014). Dessa symtom innefattar förhårdnade och förtjockade trampdynor som lätt spricker. Lateralt på trampdynorna ses även utbuktande strukturer (Sayyab *et al.* 2016 & Drögemüller *et al.* 2014). I jämförelse till detta orsakas trampdynehyperkeratos hos rottweiler av en deletion av fem baspar i genen *Desmoglein 1 (DSG1)* (Backel *et al.* 2020). Detta resulterar i en förändrad läsram vid translation av proteinet och att proteinet blir kortare. De kliniska bilder som observerats hos rottweiler är förtjockade trampdynor med fissurer och utbuktande keratiniserade strukturer. Dessutom har det observerats generell klåda samt återkommande öroninfektioner (Backel *et al.* 2020).

Trampdynehyperkeratos har även identifierats hos dogue de bordeaux där den bakomliggande genvarianten för sjukdomen konstaterats vara orsakad av en insertion i genen *Keratin 16 (KRT16)*. Resultatet av denna genvariant blir en förändrad läsram som orsakar ett förkortat protein på grund av ett för tidigt stoppkodon vid translation (Plassais *et al.* 2015). Den kliniska bilden hos affekterade hundar innefattar förtjockade trampdynor med fuserade papilliforma strukturer samt fissurer i trampdynorna (Paradis 1992). Genvarianten som konstaterats orsaka sjukdomen hos norfolk terrier är lokaliserad i genen *Keratin 10 (KRT10)*. Denna mutation kan orsaka flera olika felaktiga strukturer hos det bildade proteinet. Hos vuxna hundar kan symtom som sköra trampdynor som utvecklar lesioner och fissurer samt hyperpigmentering (Credille *et al.* 2005).

Nyligen har två tyska schäfrar diagnosticerats med trampdynehyperkeratos. Detta har skett efter klinisk undersökning av legitimerade veterinärer med specialist-examen inom dermatologi samt bekräftande histopatologisk undersökning från biopsier. Hundarna har gemensam fader men olika mödrar. Samtliga föräldradjur och kullsyskon till båda affekterade hundarna är kliniskt fria från trampdynehyperkeratos. Rasen tysk schäfer har sedan tidigare inte konstaterats vara drabbad av ärftlig trampdynehyperkeratos.

1.1 Syfte

Syftet med denna studie är att undersöka huruvida det finns genetiska riskfaktorer som ökar risken att utveckla trampdynehyperkeratos hos tysk schäferhund. Vidare avser denna studie undersöka om dessa riskfaktorer överensstämmer med två av de tidigare studerade genetiska riskfaktorerna i generna *FAM83G* och *DSG1*. Vid händelse av att dessa inte överensstämmer diskuteras vilka andra möjliga genetiska riskfaktorer som ligger till grund för detta.

2. Litteraturöversikt

2.1 *FAM83G* genvariant hos kromfohrländer och irländsk terrier

En sammanfattning av den kliniska bilden hos hundar av rasen irländsk terrier gjordes av Binder *et al.* (2000) där de beskrev att den kliniska bilden hos affekterade hundar ofta observeras tidigt då hundarna är mellan 18-24 veckor gamla. De initiala kliniska symtom som kan observeras hos de affekterade hundarna är då att epidermis på hundarnas trampdynor blir förtjockat, förhårdnat och oelastiskt. Denna kliniska bild vidareutvecklas till att medföra att epidermis på trampdynorna bildar papill-formade utbuktningar lateralt. Vidare visade Drögemüller *et al.* (2014) hur dessa strukturer kan växa till en storlek på upp till 5 mm i diameter. Till följd av att epidermis blir förhårdnat och oelastiskt uppstår fissurer i varierande storlek och djup, som kan ge upphov till sår i trampdynorna. Detta resulterar i sin tur i smärta och hälta hos de affekterade hundarna. Utöver detta kan även hundarnas klor vara väldigt hårda samt växa snabbare än hos friska hundar. Den kliniska bilden hos irländsk terrier och kromfohrländer är i stort gemensam mellan dessa hundraser (Drögemüller *et al.* 2014).

De histopatologiska fynd som gjordes av Drögemüller och medarbetare (2014) från biopsier tagna från affekterade trampdynor hos hund av rasen kromfohrländer var måttlig epidermal hyperplasi samt utbuktande papill-liknande strukturer. Epidermis på hundarnas trampdynor täcktes av rikligt med keratin från hudlagret *stratum corneum*. Vid dessa histopatologiska undersökningar noterades hur cellerna i affekterade hundars epidermis var differentierade och att inga cellkärnor kunde observeras i *stratum corneum*. Detta är även något som Binder *et al.* (2000) observerade vid histopatologiska undersökningar hos irländsk terrier, då de även observerade en avsaknad av epidermolys och inflammatoriska infiltrat i epidermis. Vidare beskriver Binder *et al.* (2000) hur de vid histopatologiska undersökningar utöver detta även observerat hur epidermala papiller är mer markant framträdande, avrundade och delvis fuserade med varandra. Dessutom beskriver de hur de kunde se hypergranulos, det vill säga ett förtjockat *stratum granulosum*, i epidermis.

Efter bioinformatisk analys av genomförd helgenomsekvensering av genomiskt DNA från en affekterad avkomma och båda friska föräldrar hos rasen kromfohrländer identifierade Sayyab och medarbetare (2016) en punktmutation i exon 1 i genen *FAM83G*, där en guanin-nukleotid bytts ut mot en cytosin-nukleotid. Detta resulterar i ett aminosyrautbyte (så kallat missens) där aminosyran arginin byts ut mot prolin. Effekten av detta blir en förändring i laddning då arginin är en positivt laddad aminosyra medan prolin generellt klassificeras inneha en neutral laddning,

vilket kan påverka proteinets struktur. Detta resulterar i sin tur i att proteinet får en förändrad funktion. Den affekterade avkomman i denna studie var homozygot för mutationen medan de båda friska föräldradjuren var heterozygota för den. I enlighet med detta nedärvningsmönster konstaterades att mutationen var autosomt recessiv (Sayyab *et al.* 2016). Denna mutation identifierade även Drögemüller (2014) hos irländska terrierhundar som var drabbade av trampdynehyperkeratos.

I en tidigare studie undersökte Vogt *et al.* (2014) proteomet av regulatoriska proteiner som är involverade i ben-morfogenetiska-proteiners (BMP) signalvägar, som vidare är en grupp närbesläktade ligander som binder till Transforming Growth Factor beta (TGF- β) familjen. Denna grupp av ligander är nödvändiga för etablering och upprätthållande av homeostas i flertalet olika vävnader. Vidare bidrar BMP-signalvägar mer specifikt till att kontrollera fundamentala cellulära processer inom differentiering, proliferation, cellulär överlevnad, migration och morfogenes. Detta uppnås vid bindning mellan BMP-ligand till dess som då underlättar fosforylering och därmed aktivering av bland annat typ 1 BMP-receptorer. Resultatet av detta är att typ 1 BMP-receptorer i sin tur fosforylerar och aktiverar receptor-reglerande transkriptionsfaktorer i R-SMAD familjen i cytoplasman, såsom R-SMAD-1, R-SMAD-5 och R-SMAD-8, varpå dessa därefter interagerar med SMAD-4 och transporteras till cellkärnan där de binder DNA och fungerar som transkriptionsfaktorer i dessa komplex. Vid denna proteomiska studie identifierade Vogt *et al.* (2014) genen *FAM83G* som kodar för ett interaktionsprotein till SMAD 1. Detta uppnås då FAM83G, till följd av aktivering från BMP typ 1 kinaser, bildar ett makromolekylärt komplex tillsammans med SMAD 1, vilket kan ske oberoende av interaktion med SMAD 4. Vidare kunde Vogt *et al.* (2014) i denna studie visa hur FAM83G utöver detta även reglerar genuttryck oberoende av signalering från BMP-signalvägar.

I en annan studie undersökte Wu (2019) funktionen hos FAM83-proteiner genom att analysera deras gemensamma och konserverade Domain of Unknown Function 1669 (DUF1669) -domän vid proteinernas N-terminal. De observerade då hur dessa proteiner binder till olika CK1-isoformer och därmed förflyttar dessa till olika subcellulära lokalisationer. Mer specifikt kunde de observera hur FAM83G interagerar med CK1- α och därigenom bidra till att stimulera Wnt-signalerings i celler. Detta genom att stimulera ackumulation av β -catenin i cellkärnan. β -catenin bidrar till att aktivera Wnt-beroende genuttryck genom att bilda makromolekylära komplex tillsammans med TCF-/LEF-transkriptionsfaktorer. Vid proteomisk analys av interagerande protein hos celler med *FAM83G*-mutation observerade Wu (2019) höga nivåer av CK1- α , vilket de föreslog visar på en oförmåga hos proteinet att binda till CK1- α och därmed aktivera Wnt-signalerings. Till följd av detta föreslogs att de relativa nivåer av Wnt-signalerande komponenter som regleras av

CK1- α mellan celler och vävnader kommer bidra till den fenotyp som uttrycks till följd av mutation i *FAM83G*-genen. Dessutom noterar de ett högt genuttryck av *FAM83G* i epidermis och hårfolliklar, vilket då skulle kunna innebära att *FAM83G* är nödvändig för vävnadsspecifik reglering av CK1- α aktivering samt modulering av signalrespons i dessa vävnader.

2.2 *DSG1* genvariant hos rottweiler

Vid studie av trampdynehyperkeratos hos rottweiler noterade Backel *et al.* (2020) hur de symtom som utvecklas skildes åt i både utseende och allvarlighetsgrad i jämförelse med motsvarande sjukdom hos kromfohrländer och irländsk terrier. En affekterad rottweiler uppsökte veterinär vid sex månaders ålder då djurägarna hade noterat att hunden hade torra trampdynor sedan åtta veckors ålder. Vid den kliniska undersökningen uppvisade hunden symtom såsom förtjockade trampdynor bestående av keratin där de digitala och metacarpala/metatarsala trampdynorna var mest affekterade. Vidare observerades fissurer i trampdynorna. Utöver regelbunden applicering av fuktgivande och keratolytiska behandlingar var denna hund även i behov av regelbunden trimning av trampdynorna under generell anestesi. Intervallen mellan denna trimning av trampdynorna förkortades då hundens symtom förvärrades över tid. Denna hund utvecklade även icke-säsongsbunden klåda samt återkommande öroninfektioner vid 8-12 månaders ålder. Vid behandling för detta kunde hundens klåda kontrolleras. Däremot fortsatte de återkommande öroninfektionerna uppkomma, samt flera intermittenta tillfällen med bakteriella ytliga hudinfektioner. Utseendet av huden vid de uppkomna hudinfektionerna kunde observeras vara hyperkeratotiska plaque samt ytliga krustor. Dessa hudinfektioner uppkom oftast över områden som utsattes för hög påfrestning, såsom till exempel armbågar och lateralt på haserna.

I biopsier tagna från trampdynorna kunde Backel *et al.* (2020) observera hur det förekom hyperplasi i epidermis yttersta lager *stratum corneum*. Detta medförde en tydlig expansion av epidermis gentemot hur trampdynor ser ut hos oaffekterade hundar. Vidare observerades utseendet i *stratum corneum* vara arrangerat i papillära villi-liknande strukturer bestående av kompakt keratin. Utöver detta ses även expansion av det granulära cellagret.

För rottweiler-hundar med trampdynehyperkeratos kunde Backel *et al.* (2020) identifiera en mutation i genen *DSG1*, vilket är en gen som de menar kan orsaka motsvarande sjukdom hos människa, palmopantar keratoderma. Mutationen hos rottweiler innebar en deletion av fem baspar som orsakar en läsramsförskjutning. Den affekterade hunden i denna studie var homozygot för mutationen. De hade dock inte tillgång till hundens föräldradjur eller andra heterozygota rottweiler-hundar. Av denna anledning kunde de inte säkerställa huruvida denna mutation gav

upphov till trampdynehyperkeratos vid enbart homozygot eller även vid heterozygot genuppsättning, likt motsvarande mutation hos människa med motsvarande sjukdom. Genen *DSG1* kodar för proteinet desmoglein 1, vilket utgör en del av desmosomer.

Johnson *et al.* (2014) beskriver i en artikel hur desmosomer bidrar till att upprätthålla intercellulära bindningar genom att binda intermediära filament mellan närliggande celler till varandra och därmed stärks integriteten i vävnader. Desmosomer finns framför allt i epitelvävnader som utsätts för mekanisk stress som epitel i hud och hjärta och ger stabilitet och styrka hos vävnader. I huden påverkar de genomsläpplighet, det vill säga förmågan att utestänga ämnen från att upptas genom huden. De proteiner som utgör desmosomer är de transmembranbundna desmoglein och desmocollin som via bindning till plakoglobin, plakofilin och desmoplakin binder till intermediära filament i cellernas cytoplasma. Vidare beskriver Waschke *et al.* (2005) hur de komponenter som utgör desmosomer förändras i keratinocyter i takt med att dessa celler differentierar och stratifierar. DSG1 uttrycks i celler som förflyttats utanför basal lamina och därmed befinner sig i de suprabasala dermala skikten. Uttrycket av DSG1 ökar progressivt i stratifieringslagren i epidermis.

Genom flertalet olika experimentella tester kunde Harmon *et al.* (2013) påvisa hur *DSG1* har en reglerande funktion vid celldifferentiering hos keratinocyter. Detta sker då DSG1 på desmosomer binder till proteinet Erbin och genom denna bindning bidrar till att inhibera ERK-SHOC2 bindning, vilket vidare skulle medföra aktiverande bindning av SHOC2 till membranbundet Ras som är ett GTPas. Vid en sådan bindning stimuleras celldifferentiering som bidrar till en felaktig cellulär formation för de yttre epidermala cellulära lagren. Den inhibition av ERK som möjliggörs av DSG1 möjliggör de morfologiska och biokemiska förändringar som är nödvändiga för keratinocyter i differentieringssyfte för att bilda ett funktionellt *stratum corneum*.

2.3 *KRT16* genvariant hos dogue de bordeaux

Ärftlig trampdynehyperkeratos förekommer även hos hundrasen dogue de bordeaux. Hos denna hundras varierar de symtom som uppvisas mellan individer från lindriga till svåra. Den kliniska bilden kartlades av Paradis (1992). Hos de hundar som undersöktes visade samtliga affekterade individer symtom vid sex månaders ålder. De lindriga symtom som kunde ses hos några av de drabbade individerna var lesioner på samtliga trampdynor samt förtjockade trampdynor i papill-liknande strukturer. Hos dessa fall förekom ingen uttalad hälta eller andra uttryck av smärtsymtom. Vid svårare fall var dessa förändringar mer uttalade och orsakade även fokalt djupare fissurer samt inflammation i trampdynorna. Vidare förekom även hälta och andra smärtsymtom hos de hundar som uppvisade svårare symtom.

Ovanstående symtom är även något som Plassais och kollegor (2015) beskriver hos de affekterade hundarna som undersöktes i deras studie. Vidare påpekar de att klorna hos de affekterade hundarna föreföll vara asymtomatiska.

Från biopsier av de affekterade trampdynorna kunde Paradis (1992) histopatologiskt beskriva papillär epidermal hyperplasi samt diffus ortokeratotisk hyperkeratos, det vill säga hyperkeratos där cellerna har normalt utseende. Vissa av de papillära strukturerna bestående av keratin hade även fuserat. Vidare sågs yttlig perivaskulär dermatit samt en lindrig inflammationsbild bestående av infiltration av lymfocyter. Även Plassais *et al.* (2015) beskriver hur de histopatologiskt observerade förtjockat hyperkeratotiskt epidermis på trampdynorna hos affekterade hundar, samt koniska papillära strukturer. De beskriver också ett välutvecklat granulärt cellager och kompakt ortokeratos utanför de papillära strukturerna. Vidare beskriver kompakta kolumner av parakeratotiska celler (närvaro av nucleolar i yttersta hudlagret) samt avsaknad av eller förminskat granulärt cellulärt lager. Dessutom beskrivs hur det histopatologiskt kan urskiljas vakuoler i cytoplasma i de ytliga corneocyterna. Mellan de papillära strukturerna beskrivs dyskeratos i form av ett irregulärt och framträdande granulärt cellager med lindrig till måttlig fyllnad av keratin. Hos vissa individer kunde även ytliga kroniska dermala infiltrat observeras.

I en studie om keratin-generna i KRT-familjen kunde Bowden *et al.* (2009) definiera hur *KRT1*, *KRT6* och *KRT16* uttrycks i trampdynor hos hundar i det suprabasala cellagret. Baserat på denna studie undersökte sedan Plassais *et al.* (2015) genuttrycket av dessa gener och kunde konstatera hur genuttryck från *KRT16* inte kunde observeras i biopsier från affekterade hundar i jämförelse med friska hundar av rasen dogue de bordeaux. Det kunde däremot finnas diskreta aggregat av proteinet KRT16 i de förhornade cellagren i trampdynorna hos dessa hundar där trampdynan ej regelbundet kommer i kontakt med underlag. Vidare genomförde Plassais *et al.* (2015) en genetisk studie i syfte att lokalisera den genvarianten som är associerad med ökad risk att utveckla sjukdomen hos denna hundras. De kunde då identifiera en insertion/deletion av fyra nukleotider samt en ytterligare separat insertion i *KRT16*-genen, vilket orsakar en förändrad läsram och ett för tidigt stoppkodon. Detta medför att proteinet förlorar en domän som innehåller ett så kallat helix terminationsmotiv, vilket är en välbevarad struktur i keratiner då dessa är involverade i hur keratiner interagerar och binder till varandra i filament. Samtliga affekterade hundar var homozygota för denna genvariant och samtliga friska hundar var antingen homozygota för vildtyp eller heterozygota för mutationen. Då heterozygota individer var fria från symtom föreslår Plassais *et al.* (2015) att vildtyp-allelen kan kompensera för en muterad allel, samt att nedärvningsmönstret för mutationen är autosomt recessiv.

2.4 *KRT10* genvariant hos norfolk terrier

Ytterligare en form av ärftlig hyperkeratos undersöktes av Credille *et al.* (2005), som tittade på trampdynhyperkeratos hos norfolk terrier. Hos dessa hundar kunde abnormalt trampdynor observeras efter födseln hos samtliga affekterade individer. Detta kunde konstateras då huden på trampdynorna hos affekterade hundar kunde skalas av efter att de utsatts för lindrigt mekaniskt trauma. Dessa sköra trampdynor kvarstod hos vuxna hundar. Utöver detta kunde även hyperpigmentering samt generaliserad hyperkeratos uppkomma vid områden med hud-mot-hud-kontakt hos de hundar med allvarligare klinisk bild. Denna kliniska bild fortsatte inte att utvecklas efter att hundarna nått vuxen ålder.

Medelst ljusmikroskopi kunde Credille *et al.* (2005) observera epidermolys i det granulära cellagret hos affekterade hundar. Vidare kunde lesioner samt hyalina granula observeras i *stratum granulosum* i trampdynorna. *Stratum corneum* var lindrigt till måttligt förtjockat med attenuerade corneocyter. Utöver detta observerades även epidermal hyperplasi i papillära formationer. Efter utförd immunohistokemisk undersökning kunde de även konstatera hur uttrycket av *KRT10* var nedsatt i dessa biopsier. Elektronmikroskop kunde bekräfta cytolys, minskad närvaro av tonofilament samt abnormalt strukturer mellan tonofilament.

Efter bioinformatisk analys av helgenomsekvensdata noterade Credille *et al.* (2005) ett G/T basparsutbyte (från ett acceptor site GT för splitsning till TT) i *KRT10*-genen. Positionen för detta utbyte var på splitsningsställe för intron 5 i denna gen. I studien beskriver de hur proteinets huvudsakliga funktion är att bilda keratinfilament och på detta sätt bidra till att *stratum corneum* bibehåller korrekt struktur och uppbyggnad. Affekterade hundar var homozygota för denna mutation, medan heterozygota hundar inte uppvisar de symptom som kännetecknar sjukdom. Till följd av detta föreslås nedärvningsmönstret för sjukdomen vara autosomt recessivt. Effekten av denna mutation på proteinet var att hela eller delar av exon 5 exkluderades från proteinet, eller att intron 5 inkluderades i proteinet. Vid translation av proteinet då exon 5 exkluderades resulterade detta i deletion av 42 aminosyror från proteinet. Då delar av exon 5 exkluderades till följd av felaktig splitsning skedde en deletion av 35 baspar samt läsramsförskjutning i mRNA. Detta medverkade till insertion av 114 felaktiga nukleotider samt ett för tidigt stoppkodon i proteinet. Inklusion av intron 5 i mRNA medförde ett för tidigt stoppkodon hos proteinet. Vid translation av mRNA till proteinet med denna mutation försvann därmed delar av proteinet, alternativt avslutades translationen för tidigt. Effekten av denna mutation teoretiserar Credille *et al.* (2015) medverkar till de affekterade hundarnas fenotyp genom att positionen är lokaliserad N-terminalt relativt proteinets välbevarade helix-terminations motiv.

2.5 Human palmopplantar keratoderma

Motsvarande sjukdom till trampdynehyperkeratos hos hund finns även beskrivet hos människa, då under namnet palmopplantar keratoderma. I sin studie om *DSG1*-mutation hos rottweiler kartlade Backel *et al.* (2020) bakomliggande humana genförändringar som leder till palmopplantar keratoderma och listade då fenotyp och nedärvningsmönster. Utifrån deras tabell om tidigare identifierade mutationer beskrivs nedan hur dessa gener ger uttryck för symtom på palmopplantar keratoderma hos människa. Lokalisation på kroppen för uttryck av dessa symtom från de genvarianter som finns beskrivna finns även angivet i Tabell 1.

Tabell 1. Tabell 1 visar hur symtombilden för palmoplantar keratoderma ser ut hos människa. Kolumnerna visar plats för uttryck av symptom som identifierats hos genvarianter i de givna generna.

Gen/Symtom	Händer	Fötter	Armar	Ben	Hår	Tänder	Mun	Naglar	Dövhet	Hjärta	Övrigt
<i>AAGAB</i>	x	x									
<i>AQP5</i>	x	x									
<i>CARD5</i>	x	x									
<i>COL11A1</i>	x	x									
<i>CTSC</i>	x	x									
<i>DSG1</i>	x	x									
<i>DSP</i>	x	x									
<i>ENPP1</i>			x	x							
<i>FAM83G</i>	x	x			x			x			
<i>GJA1</i>	x	x			x						
<i>GJB2</i>	x	x							x		
<i>GJB3</i>	x	x	x	x							
<i>GJB4</i>	x	x	x	x							
<i>GJB6</i>	x	x			x			x			
<i>JUP</i>	x	x			x					x	
<i>KANK2</i>	x	x			x						
<i>KRT1</i>	x	x									
<i>KRT6A</i>	x	x					x	x			
<i>KRT6B</i>	x	x									
<i>KRT6C</i>	x	x					x	x			
<i>KRT9</i>	x	x									
<i>KRT16</i>	x	x					x	x			
<i>KRT17</i>	x				x	x		x			
<i>LOR</i>	x	x			x			x	x		Myopati, paraplegi
<i>POMP</i>	x	x	x	x							
<i>SASH1</i>	x	x			x	x					Cancer
<i>SERPINB7</i>	x	x		x							
<i>SLURP1</i>	x	x					x	x			
<i>TAT</i>	x	x									Förhöjt tyrosin
<i>TGM1</i>	x	x	x	x							
<i>TRPV3</i>	x	x									
<i>WNT10A</i>	x	x						x			Svettning

DSG1-mutation förekommer även hos människa och orsakar då palmoplantar keratoderma typ 1. De symptom som vanligtvis framträder vid denna mutation hos människa är strimmig hyperkeratos samt hyperkeratotiska band på händer och fötter

(Rickman *et al.* 1999). Även mutation i *FAM83G* leder till palmopplantar keratoderma hos människa, vars fenotyp även inkluderar en ökad hårväxt på huvudet. De symtom som kännetecknas av denna mutation är gulaktig missfärgning på handflator och fotsulor som vanligtvis debuterar vid cirka 2 års ålder, tillsammans med vårt-liknande diffus hyperkeratos. Utöver detta ses även missfärgning och dystrofiska naglar samt tjockt, snabbväxande och ulligt hår på huvudet (Maruthappu *et al.* 2018). Dessutom förekommer mutation i *KRT16*-genen också hos människa och medverkar då till fokal icke-epidermolytisk palmopplantar keratoderma typ 1. Den kliniska bild som kan ses hos individer med denna mutation är fokal icke-epidermolytisk palmopplantar hyperkeratos, orala mukosala och follikulära lesioner, dystrofiska naglar samt oral leukokeratos (vilket ses som förtjockad vit-/gråaktig slemhinna i munnen) (McLean *et al.* 1995).

Mutation i *AAGAB* har identifierats orsaka palmopplantar keratoderma typ 1A hos människa. Symtom på sjukdomen debuterar vanligen mellan 10-20 års ålder och ses då som små, runda lesioner på handflator och fotsulor. Dessa lesioner tilltar sedan i storlek med ålder och blir mest omfattande på ytor som utsätts för hård belastning (Pohler *et al.* 2012, Giehl *et al.* 2012). En annan variant av palmopplantar keratoderma, typ 1B, orsakas i stället av en genvariant i genen *COL11A1*. Även denna mutation medverkar till punktformad palmopplantar keratoderma på handflator och fotsulor (Guo *et al.* 2012).

Palmopplantar keratoderma typ 2 orsakas av mutation i genen *DSP*. Den kliniska bilden innefattar strierad hyperkeratos på handflator och fotsulor, som vanligen förekommer i linjära mönster över de ytor som belastas och/eller böjs. Dessa affekterade områden innehar också en ökad risk att drabbas av fissurer (Armstrong *et al.* 1999). Vidare orsakas palmopplantar keratoderma av Bottnisk typ (från bottniska viken) av mutation i genen *AQP5*. Denna mutation ger upphov till symtom hos barn som yttras som diffus och jämn hyperkeratos. Utöver detta ses även en gulaktig missfärgning på handflator och fotsulor (Blaydon *et al.* 2013).

En variant av palmopplantar keratoderma är pityriasis rubra pilaris (rödaktiga utslag), som orsakas av mutation i genen *CARD14*. Den kliniska bild som denna mutation orsakar är ofta synlig hos affekterade individer vid födsel, men kan också debutera under de första levnadsåren. Denna kliniska bild innefattar follikulär påtaglig hyperkeratos, diffus hyperkeratos samt erythem (Fuchs-Telem *et al.* 2012). Ytterligare en fenotyp av palmopplantar keratoderma hos människa kan ses vid mutation i genen *CTSC*, vilket medför Papillon-Lefevre Syndrom. Symtomen debuterar ofta innan tre års ålder då hyperkeratos utvecklas i varierande grad på handflator och fotsulor. Vidare ses även hyperkeratos på armbågar och knän. Utöver detta ses även parodontit i varierande grad hos drabbade individer (Toomes *et al.*

1999). En annan variant av palmopplantar keratoderma hos människa är Coles sjukdom, som ofta debuterar från födsel alternativt tidigt i livet. Denna sjukdom uppkommer hos människor med mutation i genen *ENPP1*. De symtom som ses hos dessa människor är punktformad hyperkeratos med irreguljära hypopigmenterade macula på armar och ben (Eytan *et al.* 2013).

Mutation i genen *GJB2* ger uttryck för fenotypen palmopplantar keratoderma och dövhet. Detta ses i den kliniska bilden som palmopplantar hyperkeratos och progressiv bilateral sensorineural hörselnedsättning av höga frekvenser (Heathcote *et al.* 2000). Vidare har även mutation i generna *GJB3* och *GJB4* identifierats orsaka erythrokeratoderma variabilis et progressiva 1 respektive 2. De symtom som kan ses hos drabbade människor är rödbruna hyperkeratotiska plaque över hela kroppen, samt erythem (Richard *et al.* 1998, Macari *et al.* 2000). Mutation i genen *GJB6* medför hos människa ectodermal dysplasi 2 av Clouston typ. Detta kan ses som palmopplantar hyperkeratos, delvis alternativt fullständig alopeci, hypoplasi av naglar samt nageldystrofi i den kliniska bilden (Lamartine *et al.* 2000).

Det har även identifierats en mutation i genen *GJAI* som ger upphov till palmopplantar keratoderma samt medfödd alopeci hos drabbade individer. De symtom som ses hos dessa individer är kraftig hyperkeratos, medfödd alopeci samt leukonychia totalis, då naglarna får vitt utseende (Wang *et al.* 2015). Naxos sjukdom orsakas av mutation i genen *JUP*. Denna mutation medför arytmogon högerkammardysplasi, icke-epidermolytisk palmopplantar hyperkeratos samt ulligt hår (McKoy *et al.* 2000). Även vid mutation i *KANK2*-genen medför palmopplantar keratoderma, vilket ses som palmopplantar hyperkeratos i den kliniska bilden, samt ulligt hår (Ramot *et al.* 2014).

Vidare kan mutationer i någon av generna i *KRT*-familjen medföra palmopplantar keratoderma med olika fenotypiska uttryck. Palmopplantar keratoderma, epidermolytisk eller icke-epidermolytisk variant orsakas av mutation i genen *KRT1*. De symtom som framträder vid denna mutation är diffus icke-epidermolytisk hyperkeratos på handflator och fotsulor, som ofta debuterar innan ett års ålder. Utöver detta ses även epidermolytisk hyperkeratos och vakuolär degeneration av stratum granulosum (Kimonis *et al.* 1994). Utöver detta orsakar mutation i genen *KRT9* palmopplantar keratoderma vilket ges uttryck för i symtom såsom palmopplantar hyperkeratos (Reis *et al.* 1994). Mutation i generna *KRT17*, *KRT6A* och *KRT6B* medför pachynychia congenita 2, 3 respektive 4. Mutation i *KRT17* kännetecknas av dystrofiska naglar, lindrig plantar hyperkeratos, multipla epidermala cystor, abnormala ögonbryn, kroppsbehåring och natala tänder (McLean *et al.* 1995). Vid mutation i *KRT6A*-genen ses förtjockade naglar, palmopplantar hyperkeratos och leukokeratos på tunga hos drabbade människor (Bowden *et al.* 1995). Till skillnad

från detta är de symtom som ses vid mutation i *KRT6B* genen steatocystom, fokal palmoplantar hyperkeratos – då huvudsakligen på ytor som utsätts för belastning, hypertrofisk nageldystrofi och lindrig lingual hyperkeratos (Smith *et al.* 1998). Vidare förekommer även mutation i *KRT6C*-genen vars fenotyp klassificeras som palmoplantar keratoderma av icke-epidermolytisk typ. De symtom som kan ses hos människor med denna mutation är lindrig nagelhypertrofi på enstaka tånaglar samt hyperkeratotiska lesioner på fotsulorna. Hos enstaka individer förekommer även buccal leukokeratos (Wilson *et al.* 2010).

Vohwinkel syndrom med iktyos kan ses hos individer med mutation i genen *LOR*. Vid denna mutation kan flertalet olika symtom ses såsom palmoplantar hyperkeratos i vaxkake-liknande utseende, sammandragande band över fingrar och tår samt hyperkeratotiska lesioner. Vidare kan det även observeras alopeci, hög-frekvent hörselnedsättning samt spastisk paraplegi och myopati (Maestrini *et al.* 1996). Vid mutation i genen *POMP* ses istället fenotypen keratosis linearis med iktyos congenita och skleroserande hyperkeratos. De symtom som då kännetecknas vid denna mutation är iktyos, förtjockad hud på handflator och fotsulor, hyperkeratotiska plaque på knän, handleder och armhålor samt cirkulära sklerotiska sammandragande band på fingrarna. Det kan även ses deformiteter vid huden i anslutning till fingrarnas leder samt linjära hyperkeratotiska pustler på handleder och armveck samt knäveck (Dahlqvist *et al.* 2010). En mutation som utöver keratoderma även medför en fenotyp inkluderande cancer, alopeci, pigment dyscrasia och onychodystrofi är mutation i genen *SASH1*. De symtom som utvecklas vid denna mutation är hypo- och hyperpigmenterade macula, total alopeci, dystrofiska naglar, diffus palmoplantar hyperkeratos samt att drabbade individer tappar tänder (Courcet *et al.* 2015).

SERPINB7-mutation ger upphov till fenotypen palmoplantar keratoderma av Nagashima typ hos människor. Detta kännetecknas av symtom såsom palmoplantar hyperkeratos, som även finns dorsalt på händer och fötter, handleder, fotleder och över hälsens område. Dessutom ses överdriven svettning på handflator och fotsulor (Kubo *et al.* 2013). Fenotypen tyrosniemia typ 2 kännetecknas av symtom palmoplantar hyperkeratos, keratit samt förhöjda nivåer av tyrosin i blod och urin. Mutationen bakom dessa symtom har identifierats i genen *TAT* (Natt *et al.* 1992). Vidare har en mutation i genen *SLURPI* identifierats orsaka fenotypen Meledas sjukdom. De symtom som kännetecknar denna fenotyp är palmoplantar hyperkeratos, lesioner, perioralt erythem, brakydaktyli och deformerade naglar (Fischer *et al.* 2001).

Vidare förekommer en mutation i genen *TGMI* hos människa som orsakar medfödd iktyos. De symtom som ses vid denna mutation är varierande hudrodnad samt

fjällande hud (Huber *et al.* 1995). Icke-epidermolytisk keratoderma kan uppkomma till följd av mutation i genen *TRPV3* hos människa. De symptom som då kan ses är palmoplantara hyperkeratotiska lesioner (He *et al.* 2015). Ytterligare en mutation bakom hyperkeratos som förekommer hos människa förekommer i genen *WNT10A*, vilket leder till Schöpf-Schulz-Passarge Syndrom. Vid denna mutation förekommer symptom såsom överdriven eller undermålig svettning, vilket förekommer på olika delar av kroppen hos drabbade individer. Utöver detta ses även torr hud, abnormalt naglar, hyperkeratotiska plaque på fotsulor och handflator alternativt påtaglig hyperkeratos med lesioner (Bohring *et al.* 2005).

3. Medverkande hundar med trampdynehyperkeratos

I detta examensarbete deltog två hanhundar av rasen tysk schäfer som båda har diagnostiserats med trampdynehyperkeratos av troligt genetiskt ursprung. Dessa hundar är halvbröder då de har samma fader men olika mödrar. Varken föräldradjuren eller övriga kullsyskon uppvisar symtom som är förenliga med trampdynehyperkeratos och är därmed kliniskt fria från sjukdomen.

Hund 1 uppsökte veterinär vid 1,5 års ålder då hunden sedan fyra månaders ålder haft återkommande problem med sina tassar. De symtom som hunden uppvisat var hårda och förtjockade trampdynor med djupa sprickor som ibland var blödande. I perioder beskrevs att hunden uppvisat påtagliga smärtsymtom från tassarna. Vid klinisk undersökning kunde veterinären konstatera att hundens samtliga tassars trampdynor var förhårdnade och förtjockade med blödande fissurer. Huvudsaklig smärta hos denna hund observerades då hunden satte ned baktassar mot underlag. Utöver beskrivna symtom från tassarna hade hunden efter ett foderbyte några månader tidigare börjat uppvisa klåda och fick till följd av detta förändringar i ljumskar och öron. På grund av detta återgick hunden till tidigare foder, varpå denna klåda hade avtagit men ej försvunnit vid undersökningstillfället. Veterinären observerade även att hunden hade enstaka papler och krustor på låren, där de flesta krustorna till utseendet såg ut att vara under avläkning. Vid uppföljande telefonsamtal uppgav djurägaren att hundens klåda hade förbättrats. Hunden bedömdes utöver dessa fynd som kliniskt frisk med glansig päls och fin hud.

Vid histologisk undersökning konstaterades att trampdynorna på Hund 1 hade ett förtjockat epidermis som uppvisade acanthos samt att det fanns fokala områden med hypergranulering. Utöver detta var keratinskiktet kraftigt förtjockat och hade förekomst av ortokeratotisk hyperkeratos. För övrigt innehöll keratinskiktet melanin och var partiellt vakuoliserat. Ett fokalt område med parakeratotisk hyperkeratos kunde också observeras, i vilket det förekom sparsam exocytos samt enstaka nekrotiska keratinocyter vid ytliga delar. Även små ytliga pustler innehållande degenererade neutrofila granulocyter kunde observeras i det parakeratotiska hyperkeratotiska keratinskiktet. Subepidermalt i dermis observerades även en sparsam mängd melaninläckage, enstaka inflammatoriska celler i form av lymfocyter samt i ett område med flera neutrofila granulocyter.

Hund 2 uppsökte veterinär vid sex års ålder då hunden periodvis sedan cirka ett års ålder haft problem med spruckna trampdynor. Hunden beskrevs som halt samt vara smärtpåverkad och besvärad av detta. Enligt uppgift förvärrades hundens kliniska

bild under blöta årstider samt vid ansträngning och träning. Vid klinisk undersökning kunde veterinären konstatera att hunden hade fissurer av varierande djup på flera trampdynor. Dessa fissurer var lokaliserade på olika platser på trampdynorna och löpte åt olika håll. Utöver dessa fynd på hundens trampdynor konstaterades hundens hud och päls se fin ut.

Vid histologisk undersökning konstaterades att Hund 2 hade ett måttligt hyperplastiskt epidermis som även var undulerande. Utöver detta observerades även kraftigt, huvudsaklig ortokeratotisk, hyperkeratos samt små områden med parakeratos. Ingen sekundär inflammation kunde observeras.

4. Material och Metod

4.1 Hundar i studien

Till detta examensarbete rekryterades två hundar (Hund 1 och Hund 2) av rasen tysk schäfer med en klinisk bild som överensstämmer med trampdynehyperkeratos, och som även fått denna diagnos bekräftad histologiskt. Utöver detta deltog även ett kliniskt friskt kullsyskon (Hund 3), även detta en hanhund, till en av de affekterade hundarna. De affekterade hundarna genomgick en klinisk undersökning av legitimerade veterinärer med specialistkompetens inom dermatologi. Därefter togs biopsier från de affekterade hundarnas trampdynor under generell anestesi. Dessa biopsier analyserades sedan av laboratorieveterinär som bekräftade diagnosen. Från de tre hundarna togs sedan blod i EDTA-provrör i syfte att kunna undersöka hundarnas genomiska DNA. Vidare inhämtades information om hundarnas stamtavla samt översiktlig hälsostatus på föräldradjur och kullsyskon. Historik, blodprover och stamtavla om de tre hundarna som deltog i denna studie inhämtades med djurägarnas godkännande.

4.2 QIASymphony

DNA extraktionsroboten av modellen QIASymphony (Qiagen, Hilden Tyskland) användes för att extrahera genomiskt DNA från helblod i EDTA-rör. Denna DNA-extraktion genomfördes med QIASymphony DNA Mini Kit då 200 µL helblod och eluering i 200 µL av lowTE användes. Detta gav en spädning av DNA på 4 ng/µL.

4.3 PCR

Då genomiskt DNA extraherats från leukocyter med hjälp av QIA symphony preparerades DNA Big Dye Direct PCR Master Mix, avjoniserat vatten och primer mix. I denna primer-mix inkluderades forward och reverse primers för *FAM83G* och *DSG1* samt M13-primers. Därefter genomfördes en första PCR då regionerna för *FAM83G* och *DSG1* amplifierades. Primersekvensen som användes för amplifiering av *DSG1*-regionen var för Forward Primer 5'-GAG CAC TGA ACC GAT TTG CC-3' och för Reverse Primer 5'-GGC ATA GTC AAA GAG GTG GGT-3'. För amplifiering av *FAM83G*-regionen användes Forward Primer 5'-TGT AAA ACG ACG GCC AGT-3' och för Reverse Primer 5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACC-3'.

De volymer som användes i denna metod var i enlighet med BigDye Direct Cycle Sequencing Kit Protocol och kan ses i Tabell 2 nedan. Genamplifiering enligt PCR genomfördes enligt tabell 3 nedan.

Tabell 2. Tabell 2 visar komponenter och volymer vid preparation av extraherat genomiskt DNA inför PCR genamplifiering.

Komponent	Volym
Genomiskt DNA (4 ng/μL)	1,0 μL
Primer-mix (0,8 μM per primer)	1,5 μL
BigDye Direct PCR Master Mix	5,0 μL
Avjoniserat vatten	2,5 μL
Total volym per reaktion	10 μL

Tabell 3. Tabell 3 visar schemat som användes för PCR-analys.

Stadie	Temperatur	Tid
Stadie 1	96 °C	5 min
Stadie 2 (35 cykler)	94 °C	30 sek
	60 °C	45 sek
	68 °C	45 sek
Stadie 3	72 °C	2 min
	4 °C	∞

4.4 Sanger-sekvensering

Efter amplifiering av genomiskt DNA med PCR användes Sanger-sekvensering för cykel-sekvensering. Till detta tillsattes forward/reverse primer samt Big Dye Sequencing Master Mix som inkluderade M13-primers. De volymer som användes kan ses i tabell 4 nedan. Det amplifierade DNA:t genomgick sedan en cykel-sekvensering i vilken DNA:t amplifierades. Detta skedde enligt tabell 5 nedan.

Amplifiering via Sanger-sekvensering innebär att det används deoxiribonukleotider (dNTP) och dubbla deoxiribonukleotider (ddNTP), vilka inte innehar den 3'-OH-grupp som krävs för att bilda fosfodiesterbindning mellan deoxiribonukleotider. Detta medför att då ddNTP används vid cykel-sekvensering kommer fortsatt amplifiering av den DNA-sekvensen att upphöra. Utöver detta innehar ddNTP även fluorescerande markörer för de olika kvävebaserna A, T, G och C. Dessa fluorescens-markörer kan sedan användas för att läsa den amplifierande gensekvensen via kapillärelektrofores.

Tabell 4. Tabell 4 visar komponenter och volymer vid preparation av amplifierat genomiskt DNA inför Sanger-sekvensering.

Komponenter	Volym
BigDye Direct Sequencing Master Mix	2,0 µL
En av nedanstående sequencing primer: - BigDye Direct M13 Fwd Primer - BigDye Direct M13 Rev primer	1,0 µL
Total volym per reaktion	3,0 µL

Tabell 5. Tabell 5 visar schemat som användes för cykel-sekvensering.

Stadie	Temperatur	Tid
Stadie 1	37 °C	15 min
	80 °C	2 min
	96 °C	1 min
Stadie 2 (25 cykler)	96 °C	10 sek
	50 °C	5 sek
	60 °C	75 sek
Stadie 3	4 °C	∞

4.5 X-terminator

Sanger-sekvensering följdes därefter av Xterminator-process i syfte att rena produkterna innan avläsning i kapillärelektrofores. Detta genomfördes genom att tillsätta Xterminator- och SAM-lösning till de färdiga produkterna, och därefter blanda detta med hjälp av vortex. De volymer som tillsattes till produkterna var enligt tabell 6 nedan.

Tabell 6. Tabell 6 visar komponenter och volymer som användes vid Xterminator-process.

Komponent	Volym/Prov
SAM-lösning	45 µL
Xterminator-lösning	10 µL
Total volym	55 µL

4.6 Kapillärelektrofores

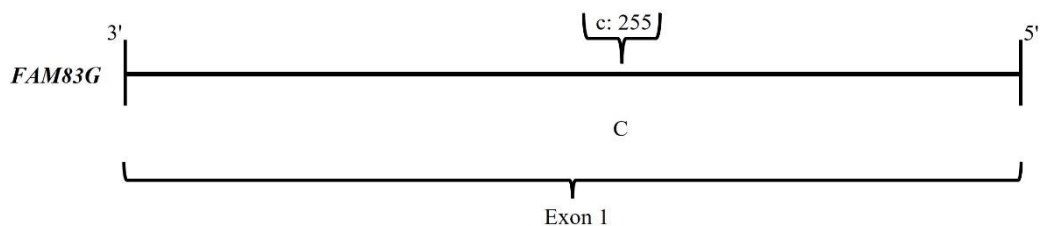
De färdiga proverna sattes sedan i ABI 3500 kapillärelektrofores. Proverna tas upp i ena änden av ett kapillärrör som är fyllt med vätska. Därefter anläggs en spänning över kapillärröret, vilket får DNA med dess negativa laddning att vandra i detta rör. Enligt denna metod kan gensekvenser sorteras baserat beroende på längd, för att

därefter avläsas. Med hjälp av ddNTP som användes vid cykel-amplifiering tidigare, se Sanger-sekvensering, kan den fullständiga DNA-sekvensen för den amplifierade produkten avläsas. Detta sker då de olika fragment av gensekvensen som bildats under cykel-sekvensering passerar en detektor, som kan läsa av fluorescensen, i andra änden av kapillären. Dessa sekvenser analyseras sedan i kromatogram.

5. Resultat

5.1 FAM83G

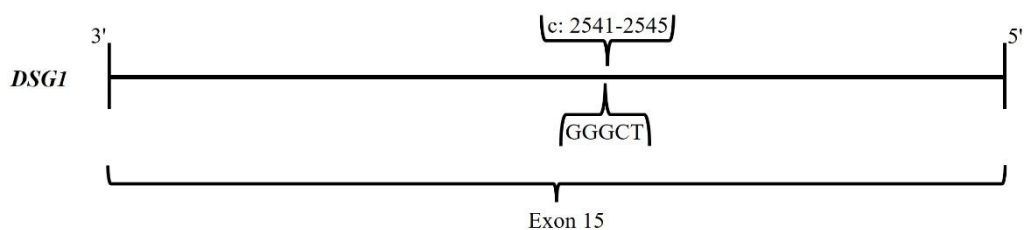
För *FAM83G* identifierades att båda de sjuka hundarna samt den kliniskt friska hunden innehar genvarianten för vildtyp och inte den genvariant som identifierats av Drögemüller *et al.* (2014) och Sayyab *et al.* (2016) hos hundar med trampdynehyperkeratos. I vildtypsvarianten är kvävebasen cytosin i position 155 för genen *FAM83G*.



Figur 1. I figur 1 visas DNA-sekvens för position 155 som innehas av Hund 1 och Hund 2 i genen *FAM83G*. Denna kvävebas var cytosin.

5.2 DSG1

De båda sjuka hundarna samt den kliniskt friska hunden som deltog i denna studie identifierades vildtyp varianten i genen *DSG1*. De besitter då inte den genvariant som Backel *et al.* (2020) identifierade hos Rottweiler med trampdynehyperkeratos.



Figur 2. I figur 2 visas DNA-sekvens för position 2541-2545 som innehas av Hund 1 och Hund 2 i genen *DSG1*. Hos dessa hundar var gensekvensen intakt.

6. Diskussion

6.1 Tolkning av resultat

I denna kandidatgen-studie undersöktes generna *FAM83G* och *DSG1* för potentiella genvarianter som tidigare identifierats hos irländsk terrier, kromfohrländer och rottweiler som diagnosticerats med trampdynehyperkeratos (Drögemüller *et al.* 2014, Sayyab *et al.* 2016, Backel *et al.* 2020). Det erhållna resultatet från de hundar som ingick i denna studie var att samtliga hundar var vildtyp för dessa gener. En konklusion som kan dras från detta resultat är trampdynehyperkeratos hos de hundar som ingick i denna studie inte är orsakad till följd av tidigare identifierade genvarianter inom *FAM83G* och *DSG1*.

Till följd av att båda de affekterade hundarna som deltog i denna kandidatgen-studie hade kullsyskon och föräldradjur som var kliniskt friska, förefaller nedärvningsmönstret för denna mutation vara autosomalt recessivt. Innebörden av detta skulle då vara att det krävs att individen är homozygot för mutationen för att trampdynehyperkeratos ska utvecklas. Detta skulle även vara i enlighet med tidigare identifierade mutationer för trampdynehyperkeratos hos hund. De båda föräldrarna skulle då vara heterozygota för mutationen. Till följd av att de två affekterade hundarna har en gemensam fader kan detta samband stärkas ytterligare.

6.2 FAM83G och DSG1

Då enbart de tidigare identifierade genvarianterna hos hundar med trampdynehyperkeratos undersöktes i denna studie skulle det kunna vara aktuellt att sekvensera hela generna *FAM83G* och *DSG1*. Detta då dessa gener sedan tidigare har kunnat observeras ha en koppling till ärftlig trampdynehyperkeratos hos hund (Drögemüller *et al.* 2014, Sayyab *et al.* 2016, Backel *et al.* 2020) samt ärftlig palmopantar keratoderma hos människa (Rickman *et al.* 1999, Maruthappu *et al.* 2018).

6.3 KRT10 och KRT16

Vidare skulle det vara aktuellt att undersöka DNA från hundarna som inkluderades i denna studie gentemot tidigare identifierade genvarianter som förknippats med ärftlig trampdynehyperkeratos hos dogue de bordeaux och norfolk terrier. De aktuella genvarianterna som då kan undersökas vidare har tidigare identifierats i generna *KRT10* och *KRT16* (Credille *et al.* 2005, Plassais *et al.* 2015). Genvarianter i dessa gener skulle kunna undersökas enligt samma metod som i denna studie. Vid händelse av att de hundar som inkluderades i denna studie även är vildtyp-genvariant i dessa gener skulle det kunna vara aktuellt att utöka denna undersökning

till att inkludera genernas fullständiga komposition. Detta då även dessa gener sedan tidigare har kunnat kopplas till ärftlig trampdynehyperkeratos hos hund (Credille *et al.* 2005, Plassais *et al.* 2015) samt ärftlig palmoplantar keratoderma hos människa för genen *KRT16* (McLean *et al.* 1995).

6.4 Helgenomsekvensering gentemot humana genvarianter

Vid händelse av att de hundar som diagnosticerats med trampdynehyperkeratos som ingick i denna studie inte innehåller genvarianter i generna *FAM83G*, *DSG1*, *KRT10* eller *KRT16* kan det bli aktuellt att genomföra helgenomsekvensering av hundarnas DNA. Helgenomsekvensering skulle möjliggöra en förutsättningslös undersökning av genvarianter i alla proteinkodande gener hos de hundar som ingick i denna kandidatgen-studie. Detta då den bakomliggande genetiska varianten även skulle kunna förekomma i en gen som tidigare inte varit identifierad som kausal för trampdynehyperkeratos hos hund eller palmoplantar keratoderma hos människa. Utifrån helgenomsekvensering av hundfamiljer eller enskilda hundar där nedärvningsmönstret är känt skulle det därefter vara möjligt att föutsättningslöst undersöka huruvida hundarna innehåller genvarianter i någon gen i arvsmassan eller specifikt i någon av de gener som identifierats vara kausala för human palmoplantar keratoderma. Eftersom autosomalt recessiv nedärvning har konstaterats skulle denna utredning primärt kunna genomföras genom att helt förutsättningslöst leta efter förekomst av genvarianter i homozygot uppsättning som ger skadlig effekt på det kodade proteinet, inklusive med ett specifikt fokus på samtliga identifierade humana genvarianter som konstaterats ge upphov till denna sjukdom. Detta skulle medföra ökad möjlighet till att kunna identifiera den kausala genvariant i den gen som gett upphov till trampdynehyperkeratos hos tysk schäfer.

Alternativt skulle det även vara möjligt att i första hand undersöka de genvarianter som innehåller en överensstämmande klinisk bild mellan hundarna i denna studie och människor. Då de symtom som observerats hos de hundar som ingick i denna studie var förtjockade och spruckna trampdynor på samtliga tassar samt smärta relaterat till detta, kan motsvarande symtombild hos människor observeras vid genvarianter hos *AAGAB*, *AQP5*, *CARD5*, *COL11A1*, *CTSC*, *DSP*, *KRT1*, *KRT6B*, *KRT9* och *TRPV3*. Vid en sådan undersökning bör det även påpekas att överensstämmande symtom vid genvarianter inom samma gen inte nödvändigtvis medför samma eller liknande symtombild hos hund och människa. Detta kan till exempel ses hos genvariant i genen *KRT16* hos människa och dogue de bordeaux då dessa hundar enbart uppvisar förtjockad hud över trampdynorna samt fissurer (Plassais *et al.* 2015) medan genvarianter i samma gen hos människa även ger upphov till orala lesioner, leukokeratos samt dystrofiska naglar (McLean *et al.* 1995).

Referenser

- Armstrong, D. K., McKenna, K. E., Purkis, P. E., Green, K. J., Eady, R. A., Leigh, I. M., & Hughes, A. E. (1999). Haploinsufficiency of desmoplakin causes a striate subtype of palmoplantar keratoderma. *Human Molecular Genetics*. Volym (8,1), 143-148. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9887343/>
- Backel, K. A., Kiener, S., Jagannathan, V., Casal, M. L., Leeb, T., & Mauldin, E. A. (2020). A *DSG1* frameshift variant in a Rottweiler dog with footpad hyperkeratosis. *Genes*. Volym (11,4), 469. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32344723/>
- Binder, H., Arnold, S., Schelling, C., Suter, M., Wild, P. (2000). Palmoplantar hyperkeratosis in Irish terriers: evidence of autosomal recessive inheritance. *The Journal of Small Animal Practice*. Volym (41,2), 52-55. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10701186/>
- Blaydon, D. C., Lind, L. K., Plagnol, V., Linton, K. J., Smith, F. J., Wilson, N. J., McLean, W. H., Munro, C. S., South, A. P., Leigh, I. M., O'Toole, E. A., Lundström, A., & Kelsell, D. P. (2013). Mutations in AQP5, encoding a water-channel protein, cause autosomal-dominant diffuse nonepidermolytic palmoplantar keratoderma. *American Journal of Human Genetics*. Volym (93,2), 330-335. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23830519/>
- Bohring, A., Stamm, T., Spaich, C., Haase, C., Spree, K., Hehr, U., Hoffmann, M., Ledig, S., Sel, S., Wieacker, P., & Röpke, A. (2009). WNT10A mutations are a frequent cause of a broad spectrum of ectodermal dysplasias with sex-biased manifestation pattern in heterozygotes. *American Journal of Human Genetics*. Volym (85,1), 97-105. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19559398/>
- Bowden, P. E., Haley, J. L., Kansky, A., Rothnagel, J. A., Jones, D. O., & Turner, R. J. (1995). Mutation of a type II keratin gene (K6a) in pachyonychia congenita. *Nature Genetics*. Volym (10,3), 363-365. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7545493/>
- Bowden, P. E., Henderson, H., & Reilly, J. D. (2009). Defining the complex epithelia that comprise the canine claw with molecular markers of differentiation. *Veterinary Dermatology*. Volym (20,5-6), 347-359. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20178471/>
- Courcet, J. B., Elalaoui, S. C., Duplomb, L., Tajir, M., Rivière, J. B., Thevenon, J., Gigot, N., Marle, N., Aral, B., Duffourd, Y., Sarasin, A., Naim, V., Courcet-Degrolard, E., Aubriot-Lorton, M. H., Martin, L., Abrid, J. E., Thauvin, C., Sefiani, A., Vabres, P., & Faivre, L. (2015). Autosomal-recessive SASH1 variants associated with a new genodermatosis with pigmentation defects, palmoplantar keratoderma and skin carcinoma. *European Journal of Human Genetics*. Volym (23,7), 957-962. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25315659/>
- Credille, K. M., Barnhart, K. F., Minor, J. S., & Dunstan, R. W. (2005). Mild recessive epidermolytic hyperkeratosis associated with a novel keratin 10 donor splice-site

- mutation in a family of Norfolk terrier dogs. *The British Journal of Dermatology*. Volym (153,1), 51-58. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16029326/>
- Dahlqvist, J., Klar, J., Tiwari, N., Schuster, J., Törmä, H., Badhai, J., Pujol, R., van Steensel, M. A., Brinkhuizen, T., Gijzen, L., Chaves, A., Tadini, G., Vahlquist, A., & Dahl, N. (2010). A single-nucleotide deletion in the POMP 5' UTR causes a transcriptional switch and altered epidermal proteasome distribution in KLICK genodermatosis. *American Journal of Human Genetics*. Volym (86,4), 596-603. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20226437/>
- Drögemüller, M., Jagannathan, V., Becker, D., Drögemüller, C., Schelling, C., Plassais, J., Kaerle, C., Dufaure de Citres, C., Thomas, A., Müller, E. J., Welle, M. M., Roosje, P., & Leeb, T. (2014). A mutation in the FAM83G gene in dogs with hereditary footpad hyperkeratosis (HFH). *PLOS Genetics*. Volym (10,5), e1004370. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24832243/>
- Eytan, O., Morice-Picard, F., Sarig, O., Ezzedine, K., Isakov, O., Li, Q., Ishida-Yamamoto, A., Shomron, N., Goldsmith, T., Fuchs-Telem, D., Adir, N., Uitto, J., Orlow, S. J., Taieb, A., & Sprecher, E. (2013). Cole disease results from mutations in ENPP1. *American Journal of Human Genetics*. Volym (93,4), 752-757. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24075184/>
- Fischer, J., Bouadjar, B., Heilig, R., Huber, M., Lefèvre, C., Jobard, F., Macari, F., Bakija-Konsuo, A., Ait-Belkacem, F., Weissenbach, J., Lathrop, M., Hohl, D., & Prud'homme, J. F. (2001). Mutations in the gene encoding SLURP-1 in Mal de Meleda. *Human Molecular Genetics*. Volym (10,8), 875-880. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11285253/>
- Fuchs-Telem, D., Sarig, O., van Steensel, M. A., Isakov, O., Israeli, S., Nussbeck, J., Richard, K., Winnepenninckx, V., Vernooij, M., Shomron, N., Uitto, J., Fleckman, P., Richard, G., & Sprecher, E. (2012). Familial pityriasis rubra pilaris is caused by mutations in CARD14. *American Journal of Human Genetics*. Volym (91,1), 163-170. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22703878/>
- Giehl, K. A., Eckstein, G. N., Pasternack, S. M., Praetzel-Wunder, S., Ruzicka, T., Lichtner, P., Seidl, K., Rogers, M., Graf, E., Langbein, L., Braun-Falco, M., Betz, R. C., & Strom, T. M. (2012). Nonsense mutations in AAGAB cause punctate palmoplantar keratoderma type Buschke-Fischer-Brauer. *American Journal of Human Genetics*. Volym (91,4), 754-859. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23000146/>
- Guo, B. R., Zhang, X., Chen, G., Zhang, J. G., Sun, L. D., Du, W. D., Zhang, Q., Cui, Y., Zhu, J., Tang, X. F., Xiao, R., Liu, Y., Li, M., Tang, H. Y., Yang, X., Cheng, H., Li, M., Gao, M., Li, P., Wang, J. B., ... Zhang, X. J. (2012). Exome sequencing identifies a COL14A1 mutation in a large Chinese pedigree with punctate palmoplantar keratoderma. *Journal of Medical Genetics*. Volym (49,9), 563-568. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22972947/>
- Harmon, R. M., Simpson, C. L., Johnson, J. L., Koetsier, J. L., Dubash, A. D., Najor, N. A., Sarig, O., Sprecher, E., & Green, K. J. (2013). Desmoglein-1/Erbin interaction suppresses ERK activation to support epidermal differentiation. *The Journal of*

- Clinical Investigation*. Volym (123,4), 1556-1570.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23524970/>
- He, Y., Zeng, K., Zhang, X., Chen, Q., Wu, J., Li, H., Zhou, Y., Glusman, G., Roach, J., Etheridge, A., Qing, S., Tian, Q., Lee, I., Tian, X., Wang, X., Wu, Z., Hood, L., Ding, Y., & Wang, K. (2015). A gain-of-function mutation in TRPV3 causes focal palmoplantar keratoderma in a Chinese family. *The Journal of Investigative Dermatology*. Volym (135,3), 907-909.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25285920/>
- Heathcote, K., Syrris, P., Carter, N. D., & Patton, M. A. (2000). A connexin 26 mutation causes a syndrome of sensorineural hearing loss and palmoplantar hyperkeratosis (MIM 148350). *Journal of Medical Genetics*. Volym (37,1), 50-51.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10633135/>
- Huber, M., Rettler, I., Bernasconi, K., Frenk, E., Lavrijsen, S. P., Ponc, M., Bon, A., Lautenschlager, S., Schorderet, D. F., & Hohl, D. (1995). Mutations of keratinocyte transglutaminase in lamellar ichthyosis. *Science (New York, N.Y.)*. Volym (267,5197), 525-528. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7824952/>
- Johnson, J.L., Najor, N. A., & Green, K. J. (2014). Desmosomes: regulators of cellular signaling and adhesion in epidermal health and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. Volym (4,11), a015297.
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4208714/>
- Kimonis, V., DiGiovanna, J. J., Yang, J. M., Doyle, S. Z., Bale, S. J., & Compton, J. G. (1994). A mutation in the V1 end domain of keratin 1 in non-epidermolytic palmar-plantar keratoderma. *The Journal of Investigative Dermatology*. Volym (103,6), 764-769. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7528239/>
- Kubo, A., Shiohama, A., Sasaki, T., Nakabayashi, K., Kawasaki, H., Atsugi, T., Sato, S., Shimizu, A., Mikami, S., Tanizaki, H., Uchiyama, M., Maeda, T., Ito, T., Sakabe, J., Heike, T., Okuyama, T., Kosaki, R., Kosaki, K., Kudoh, J., Hata, K., Umezawa, A., Tokura, Y., Ishiko, A., Niizeki, H., Kabashima, K., Mitsuhashi, Y., & Amagai, M. (2013). Mutations in SERPINB7, encoding a member of the serine protease inhibitor superfamily, cause Nagashima-type palmoplantar keratosis. *American Journal of Human Genetics*. Volym (93,5), 945-956.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24207119/>
- Lamartine, J., Munhoz Essenerfeld, G., Kibar, Z., Lanneluc, I., Callouet, E., Laoudj, D., Lemaître, G., Hand, C., Hayflick, S. J., Zonana, J., Antonarakis, S., Radhakrishna, U., Kelsell, D. P., Christianson, A. L., Pitaval, A., Der Kaloustian, V., Fraser, C., Blanchet-Bardon, C., Rouleau, G. A., & Waksman, G. (2000). Mutations in GJB6 cause hidrotic ectodermal dysplasia. *Nature Genetics*. Volym (26,2), 142-144.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11017065/>
- Macari, F., Landau, M., Cousin, P., Mevorah, B., Brenner, S., Panizzon, R., Schorderet, D. F., Hohl, D., & Huber, M. (2000). Mutation in the gene for connexin 30.3 in a family with erythrokeratoderma variabilis. *American Journal of Human Genetics*. Volym (67,5), 1296-1301. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1288569/>

- Maestrini, E., Monaco, A. P., McGrath, J. A., Ishida-Yamamoto, A., Camisa, C., Hovnanian, A., Weeks, D. E., Lathrop, M., Uitto, J., & Christiano, A. M. (1996). A molecular defect in loricerin, the major component of the cornified cell envelope, underlies Vohwinkel's syndrome. *Nature Genetics*. Volym (13,1), 70-77. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8673107/>
- Maruthappu, T., McGinty, L. A., Blaydon, D. C., Fell, B., Määttä, A., Duit, R., Hawkins, T., Braun, K. M., Simpson, M. A., O'Toole, E. A., & Kelsell, D. P. (2018). Recessive mutation in FAM83G associated with palmoplantar keratoderma and exuberant scalp hair. *The Journal of Investigative Dermatology*. Volym (138,4), 984-987. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29138053/>
- McKoy, G., Protonotarios, N., Crosby, A., Tsatsopoulou, A., Anastasakis, A., Coonar, A., Norman, M., Baboonian, C., Jeffery, S., & McKenna, W. J. (2000). Identification of a deletion in plakoglobin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease). *Lancet (London, England)*. Volym (355,9221), 2119-2124. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10902626/>
- McLean, W. H., Rugg, E. L., Lunny, D. P., Morley, S. M., Lane, E. B., Swensson, O., Dopping-Hepenstal, P. J., Griffiths, W. A., Eady, R. A., & Higgins, C. (1995). Keratin 16 and keratin 17 mutations cause pachyonychia congenita. *Nature Genetics*. Volym (9,3), 273-278. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7539673/>
- Natt, E., Kida, K., Odievre, M., Di Rocco, M., & Scherer, G. (1992). Point mutations in the tyrosine aminotransferase gene in tyrosinemia type II. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Volym (89,19), 9297-9301. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1357662/>
- Paradis, M. (1992). Footpad hyperkeratosis in a family of Dogues de Bordeaux. *Veterinary Dermatology*. Volym (3,2), 75-8. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3164.1992.tb00148.x>
- Plassais, J., Guaguère, E., Lagoutte, L., Guillory, A. S., de Citres, D. D., Degorce-Rubiales, F., Delverier, M., Vaysse, A., Quignon, P., Bleuart, C., Hitte, D., Fautrel, A., Kaerle, C., Bellaud, P., Bensignor, E., Queney, G., Bourrat, E., Thomas A., & André, C. (2015). A spontaneous KRT16 mutation in a dog breed: a model for a human focal non-epidermolytic palmoplantar keratoderma (FNEPPK). *The Journal of Investigative Dermatology*. Volym (135,4), 1187-1190. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25521457/>
- Pohler, E., Mamai, O., Hirst, J., Zamiri, M., Horn, H., Nomura, T., Irvine, A. D., Moran, B., Wilson, N. J., Smith, F. J., Goh, C. S., Sandilands, A., Cole, C., Barton, G. J., Evans, A. T., Shimizu, H., Akiyama, M., Suehiro, M., Konohana, I., Shboul, M., Teissier, S., Boussofara, L., Denguezli, M., Saad, A., Gribaa, M., Dopping-Hepenstal, P. J., McGrath, J. A., Brown, S. J., Goudie, D. R., Reversade, B., Munro, C. S., & McLean, W. H. I. (2012). Haploinsufficiency for AAGAB causes clinically heterogeneous forms of punctate palmoplantar keratoderma. *Nature Genetics*. Volym (44,11), 1272-1276. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23064416/>

- Ramot, Y., Molho-Pessach, V., Meir, T., Alper-Pinus, R., Siam, I., Tams, S., Babay, S., & Zlotogorski, A. (2014). Mutation in KANK2, encoding a sequestering protein for steroid receptor coactivators, causes keratoderma and woolly hair. *Journal of Medical Genetics*. Volym (51,6), 388-394. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24671081/>
- Reis, A., Hennies, H. C., Langbein, L., Digweed, M., Mischke, D., Drechsler, M., Schröck, E., Royer-Pokora, B., Franke, W. W., & Sperling, K. (1994). Keratin 9 gene mutations in epidermolytic palmoplantar keratoderma (EPPK). *Nature Genetics*. Volym (6,2), 174-179. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7512862/>
- Richard, G., Smith, L. E., Bailey, R. A., Itin, P., Hohl, D., Epstein, E. H., Jr, DiGiovanna, J. J., Compton, J. G., & Bale, S. J. (1998). Mutations in the human connexin gene GJB3 cause erythrokeratoderma variabilis. *Nature Genetics*. Volym (20,4), 366-369. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9843209/>
- Rickman, L., Simrak, D., Stevens, H. P., Hunt, D. M., King, I. A., Bryant, S. P., Eady, R. A., Leigh, I. M., Arnemann, J., Magee, A. I., Kelsell, D. P., & Buxton, R. S. (1999). N-terminal deletion in a desmosomal cadherin causes the autosomal dominant skin disease striate palmoplantar keratoderma. *Human Molecular Genetics*. Volym (8,6), 971-976. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10332028/>
- Sayyab, S., Wilum, A., Bergvall, K., Brunberg, E., Jagannathan, V., Leeb, T., Andersson, G., & Bergström, T. F. (2016). Whole-genome sequencing of a canine family trio reveals a FAM83G variant associated with hereditary footpad hyperkeratosis. *G3 (Bethesda, Md.)*. Volym (6,3), 521-527. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26747202/>
- Smith, F. J., Jonkman, M. F., van Goor, H., Coleman, C. M., Covello, S. P., Uitto, J., & McLean, W. H. (1998). A mutation in human keratin K6b produces a phenocopy of the K17 disorder pachyonychia congenita type 2. *Human Molecular Genetics*. Volym (7,7), 1143-1148. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9618173/>
- Toomes, C., James, J., Wood, A. J., Wu, C. L., McCormick, D., Lench, N., Hewitt, C., Moynihan, L., Roberts, E., Woods, C. G., Markham, A., Wong, M., Widmer, R., Ghaffar, K. A., Pemberton, M., Hussein, I. R., Temtamy, S. A., Davies, R., Read, A. P., Sloan, P., ... Thakker, N. S. (1999). Loss-of-function mutations in the cathepsin C gene result in periodontal disease and palmoplantar keratosis. *Nature Genetics*. Volym (23,4), 421-424. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10581027/>
- Vogt, J., Dingwell, K. S., Herhaus, L., Gourlay, R., Macartney, T., Campbell, D., Smith, J. C., & Sapkota, G. P. (2014). Protein associated with SMAD1 (PARS1/FAM83G) is substrate for type I bone morphogenetic protein receptors and modulates bone morphogenetic protein signalling. *Open Biology*. Volym (4,2), 130210. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24554596/>
- Wang, H., Cao, X., Lin, Z., Lee, M., Jia, X., Ren, Y., Dai, L., Guan, L., Zhang, J., Lin, X., Zhang, J., Chen, Q., Feng, C., Zhou, E. Y., Yin, J., Xu, G., & Yang, Y. (2015). Exome sequencing reveals mutation in GJA1 as a cause of keratoderma-hypotrichosis-leukonychia totalis syndrome. *Human Molecular Genetics*. Volym (24,1), 243-250. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25168385/>

- Waschke, J., Bruggeman, P., Baumgartner, W., Zillikens, D., & Drenckhahn, D. (2005). Pemphigus foliaceus IgG causes dissociation of desmoglein 1-containing junctions without blocking desmoglein 1 transinteraction. *The Journal of Clinical Investigation*. Volym (115,11), 3157-3165.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16211092/>
- Wilson, N. J., Messenger, A. G., Leachman, S. A., O'Toole, E. A., Lane, E. B., McLean, W. H., & Smith, F. J. (2010). Keratin K6c mutations cause focal palmoplantar keratoderma. *The Journal of Investigative Dermatology*. Volym (130,2), 425-429.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19609311/>
- Wu, K. Z. L., Jones, R. A., Tachie-Menson, T., Macartney, T. J., Wood, N. T., Varghese, J., Gourlay, R., Soares, R. F., Smith, J. C., & Sapkota, G. P. (2019). Pathogenic *FAM83G* palmoplantar keratoderma mutations inhibit the PAWS1:CK1 α association and attenuate Wnt signalling. *Wellcome Open Research*. Volym (4), 133. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31656861/>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Trampdynehyperkeratos är en ärftlig sjukdom som tidigare enbart förekommit hos fem hundraser, vilka är kromfohrländer, rottweiler, irländsk terrier, norfolk terrier och dogue de bordeaux. De symtom som kan ses hos hundar som ärvt denna sjukdom är hård och förtjockad hud på hundarnas trampdynor, sprickor i trampdynorna som kan vara blödande samt hälla till följd av smärta i trampdynorna.

Denna sjukdom har nu även kunnat konstateras hos två tyska schäferhundar, en ras i vilken denna sjukdom inte förekommit tidigare. Hundarna har olika mödrar men en gemensam fader, där föräldradjuren ej har symtom på trampdynehyperkeratos. Detta har inte heller hundarnas respektive kullsyskon, det vill säga de hundar som föddes i samma kull som de drabbade hundarna. Hos båda de insjuknade hundarna ses hårda och förtjockade trampdynor med sprickor. Dessa sprickor kan ibland blöda. Båda hundarna visar ibland hälla, vilket uppkommer till följd av smärta från tassarna.

Då sjukdom tidigare inte förekommit hos hundrasen tysk schäfer saknas kunskap kring hur denna ärvs inom rasen. Syftet med denna studie att undersöka om denna uppkomst av trampdynehyperkeratos hos tysk schäfer är orsakad av två av de tidigare identifierade defekterna i DNA som förekommer hos de andra drabbade hundraserna. Resultat från denna studie visar att de tyska schäfrarna inte har dessa två defekter i DNA.

Då ytterligare två defekter i DNA förekommer hos hundar som är drabbade av trampdynehyperkeratos är det rimligt att vidare undersöka huruvida någon av dessa även förekommer hos tysk schäfer. Motsvarande sjukdom till trampdynehyperkeratos förekommer även hos människa, under namnet palmopplantar keratoderma. De symtom som ses hos människa överensstämmer generellt med de som förekommer hos hund. Hos människa har det identifierats fler defekter i DNA som ligger till grund för sjukdomen. Då denna studie inte kunde identifiera vilken defekt i DNA som förekommer hos tysk schäfer, är vidare forskning på ämnet nödvändigt. Detta skulle kunna genomföras genom att undersöka specifika delar av DNA för tidigare identifierade defekter, alternativt genom att kartlägga hela DNA från de drabbade hundarna.

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU kan publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver i sådana fall godkänna publiceringen. I samband med att du godkänner publicering kommer SLU även att behandla dina personuppgifter (namn) för att göra arbetet sökbart på internet. Du kan närsomhelst återkalla ditt godkännande genom att kontakta biblioteket.

Även om du väljer att inte publicera arbetet eller återkallar ditt godkännande så kommer det arkiveras digitalt enligt arkivlagstiftningen.

Du hittar länkar till SLU:s publiceringsavtal och SLU:s behandling av personuppgifter och dina rättigheter på den här sidan:

- <https://libanswers.slu.se/sv/faq/228316>

☒ JA, jag har läst och godkänner avtalet för publicering samt den personuppgiftsbehandling som sker i samband med detta

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