



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjursgenetik

Strålbenshälta hos häst - vilka är de genetiska faktorerna bakom detta hälsoproblem?

Jasmine Lindholm

Examensarbete / SLU, Institutionen för husdjursgenetik
480
Uppsala 2015

Examensarbete, 15 hp
– Kandidatarbete
(Litteraturstudie)
Agronomprogrammet–Husdjur



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjursgenetik

Strålbenshälta hos häst - vilka är de genetiska faktorerna bakom detta hälsoproblem?

Navicular Disease in horse - what are the genetic factors behind this health problem?

Jasmine Lindholm

Handledare:

Göran Andersson, SLU, Institutionen för husdjursgenetik

Examinator:

Susanne Eriksson, SLU, Institutionen för husdjursgenetik

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Kandidatarbete i husdjursvetenskap

Kurskod: EX0553

Program: Agronomprogrammet–Husdjur

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2015

Serienamn, delnr: Examensarbete / SLU, Institutionen för husdjursgenetik, 480

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: Strålbenshälta, Frambenshälta, Diagnos, Genetik, Ärftlighet, Genomsekvensering, Genetiska markörer, Mikrosatellit, Enbaspolymorfi (SNP)

Key words: Navicular disease, Forelimb lameness, Diagnosis, Genetics, Heredity, Whole genome sequencing, Genetic markers, Microsatellite, Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

Sammanfattning

Denna litteraturstudie behandlar strålbenshåla hos häst, även känd som Navicular disease (ND). Studien beskriver sjukdomen och dess karaktäristiska drag, samt belyser de två huvudsakliga teorierna om den bakomliggande orsaken till insjuknandet. Det finns tydliga inklusions- och exklusionskriterier, vilka är viktiga för att kunna göra en omfattande hältutredning och för att kunna ställa rätt diagnos, som är betydande för att ge rätt behandling. Litteraturstudien belyser även det faktum att hästar drabbade av ND har visat sig ha högre intramedullärt tryck i strålsenet, samt vilka genetiska riskfaktorer som visat sig vara kopplade till sjukdomen. De genetiska defekter som behandlas är röntgenförändringar i strålsbenskonturen (RAC) och strålsbensstrukturen (RAS), samt utvecklandet av deformerade näringsfårar i strålsenet (DCS). Med hjälp av helgenomskanning av arvsmassan har sk "Quantitative trait loci" (QTL) associerade till sjukdomen kunnat identifieras på sammanlagt 9 olika kromosomer. Detta möjliggjorde att en mikrosatellit med signifikant koppling till sjukdomen hittades och visade sig vara belägen inom en region synteniskt kopplad till artros hos människa. Fokus lades därefter på DCS, där genotypisk association i *VSTM1*-genen (V-set transmembrane domain containing 1) har hittats, vilken är kopplad till osteoklaster som bryter ned ben. Samtidigt hittades också allelisk association för en SNP (Single Nucleotide Polymorphism) inom *IRF3*-genen (interferon regulatory factor 3), vilken medierar transduktionsprocesser i reumatoid artrit. Det faktum att *IRF3*-genen är en riskfaktor för ND är en mycket stark indikation på att det finns en immunologisk komponent vid sjukdomsförloppet. ND är en komplex sjukdom som kräver omfattande hältutredningar, och desto djupare förståelse om de genetiska aspekterna av sjukdomen och dess tillhörande riskfaktorer, desto säkrare avel kan tillämpas. I grund och botten är varje djursjukdom en djurvälfråga, central för både djur och människor.

Abstract

This literature study deals with Navicular disease (ND) in horses. The study gives a description of the disease and its characteristic features. It also highlights the main theories about the underlying causes, and in order to make an accurate diagnosis inclusion- and exclusion criteria have been defined. These criteria play a major role, in order to make an accurate lameness examination and to make a proper diagnosis, which are crucial for right treatment to be given. The literature study also considers the fact that horses who are diagnosed with ND seems to have a higher intramedullar pressure than healthy horses, and highlights what genetic risk factors have been found to be associated with the disease. The genetic defects mentioned in the study are radiological alterations in the contour (RAC) and radiological alterations in the structure (RAS) of the navicular bone, and also the development of deformed canals sesamoidales (DCS). With whole genome scanning, QTLs associated with the disease has been found on 9 equine chromosomes (ECA). This made it possible to find a microsatellite with significant association to the disease which appeared to be located within a region syntenic to human osteoarthritis. Thereafter, focus was put on DCS, where genetic association to the *VSTM1* gene (V-set transmembrane domain containing 1) was found, which is linked to bone degrading osteoclasts. At the same time, allelic association for a SNP (Single Nucleotide Polymorphism) within the *IRF3* gene (interferon regulatory factor 3) was found, which medi-

ates transduction processes in rheumatoid arthritis. The genetic association to the *IRF3* gene is a very strong indication that there is an immunologic component of the disease. ND is a complex disease, requiring extensive lameness examinations, and the deeper understanding of the genetic aspects of the disease and its associated risk factors, the safer and healthier breeding can be applied. Basically, each animal disease is an animal welfare issue, central to both animals and humans.

Ordlista

Bursa = Påse/säck, mellan senan och närliggande ben som senan glider över

Desmotomi = skära av ett ligament

Distala fåran = distal näringsfåra/hål i strålbenet

Hyperemi = ökat blodflöde som följd av ett organ eller en vävnads behov av syre

Intramedullärt tryck = tryck i benmärgen

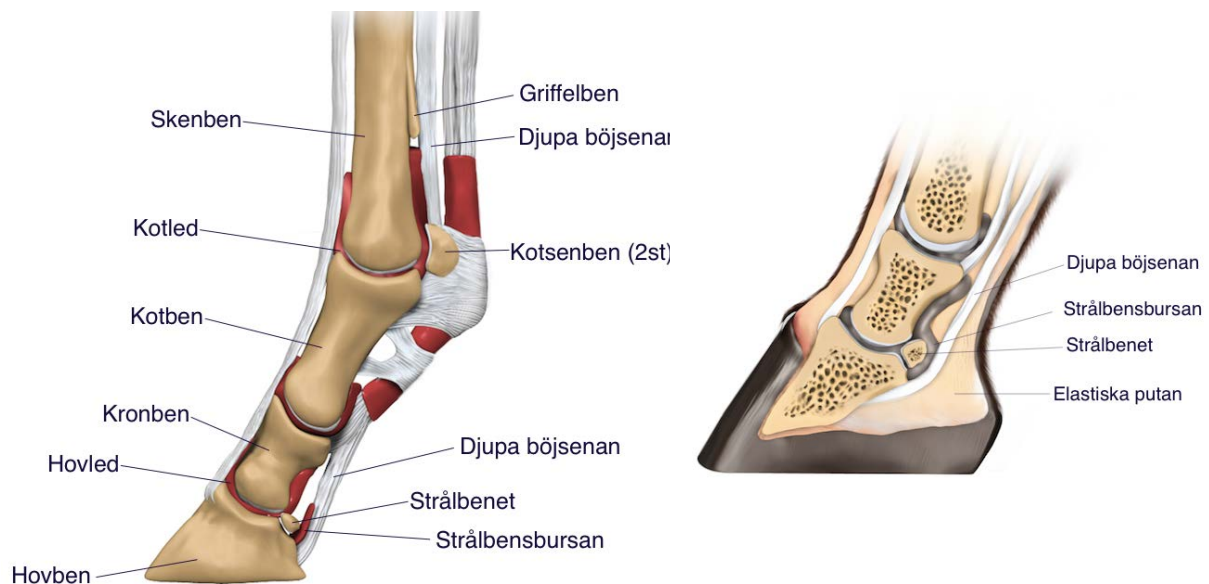
Ischemi = otillräcklig blodförsörjning för en specifik vävnads behov

Osteochondros = störning i skelettets tillväxtbrosk

Tryckfallstid = den tid det tar för benmärgstrycket att sjunka

Introduktion

Strålbenshälta, också känt som engelskans Navicular disease (ND), Navicular syndrome och podotrochlosis, är en progressiv och ofta kronisk hälta hos häst som vanligtvis visar sig på båda frambenen (Rose *et al.*, 1995; Diesterbeck *et al.*, 2007). Sjukdomen är en smärtsam och degenerativ patologisk förändring som angriper strålbenet, strålbensbursan samt de intilliggande ytorna till den djupa böjsenan (Gabriel *et al.*, 1999; Diesterbeck *et al.*, 2007).



Illustrationer med tillåtelse av: Bringman

Illustration & Design. Hästanatomi/ Svensk Travsport

Sjukdomen förekommer i flera olika hästraser, men quarterhästar och varmbloodsraser verkar vara extra mottagliga. Hos varmbloodsraserna är det dock vanligare att sjukdomen förekommer hos galoppörer, än hos travare och araber. Väldigt sällan hittas ponnyraser bland de drabbade. Vanligast är att hästarna är mellan sex till tio år gamla då sjukdomen bryter ut. (Rose, 1995)

Sjukdomen har studerats under lång tid och teorierna till uppkomsten av sjukdomen skiljer sig därför åt. Huvudsakligen finns två teoretiska grenar gällande sjukdomsuppkomsten. Den ena säger att navicular disease är en progressivt degenererande sjukdom som liknar artrit, och den andra säger att ND är en typ av ischemisk sjukdom, på något sätt förknippad med blodflödet i hoven (Rose, 1995). En utlösande faktor kan vara påtvingad vila under en längre tid, vilket verkar ge smärta och således hälta (Dyson *et al.*, 2011).

Hästar som diagnosticeras med ND har ofta en kronisk hälta som gradvis blir förvärrad, och som också kan vara oregelbunden hos hästen under den inledande fasen av sjukdomen. Ofta förbättras hästarna när de får vila, dock följs förbättringen alltid av ytterligare en försämring igen så fort hästen börjar röra på sig mer (Rose, 1995). Drabbade hästar kännetecknas av korta och hasande steg med framhovarna. Hältan förvärras också snabbt om hästen tvingas svänga tvärt. Likaså blir hältan sämre vid longering om hältan är ensidig, då tillståndet kommer förvärras när det sämre frambenet befinner sig innerst i cirkeln. (Rose, 1995)

Anledningen till mitt intresse för hovlidanden grundar sig i att jag många gånger på ett eller annat sätt varit i kontakt med svårutredda hältor. Att forskningen nu kommit så långt att det är möjligt att undersöka sjukdomsframkallande genvarianter i arvsmassan finner jag ytterst intressant. Hältor hos hästar är både en djurvälfrädsfråga, så väl som att det medför stora kostnader för hästägaren och sporten som helhet. Att få insikt i sjukdomars genetiska bakgrund, gör det möjligt att undvika avel på individer som nedärver defekta anlag, vilket i längden gynnar både djur och människor. Denna litteraturstudie ämnar därför undersöka den genetiska bakgrunden som hittills hittats gällande strålbenshälta (ND) hos häst.

Kriterier och diagnostik

För att definiera sjukdomen, och för att kunna exkludera andra typer av frambenshälta, har inklusionskriterier för sjukdomen tagits fram. Dessa anses viktiga att följa, trots att det finns många olika teorier om orsakerna för sjukdomens uppkomst, då det är viktigt att det finns en klinisk diagnos vid fastställandet av sjukdomen. Diagnostiska hjälpmedel så som röntgenbilder eller blockerande av nerver kan vara till hjälp vid fastställande av en diagnos, men är enskilt inte tillräckliga för att avgöra om hästen är drabbad av ND. En rad åtgärder måste därför följas innan en diagnos kan fastställas, dessa tolkades av Rose (1995) och lyder som följande:

- 1) Kronisk progressiv frambenshälta som antingen är ensidig alternativt dubbelsidig. Hästarna uppfattas ofta som stela och mindre rörliga i bogen.
- 2) Hälsa i främre delen av hoven har kunnat uteslutas, liksom hältor i andra närbelägna delar till hoven.
- 3) Hältan elimineras när att man blockerar hovens centrala nerver.
- 4) Positiva röntgeniakttagelser, oftast en förstoring av den distala fåran i strålbenet. (Rose, 1995)

Ytterligare iakttagelser som uppmärksammas är utvecklande av röntgenförändringar i strålbenskonturen (RAC) och strålbensstrukturen (RAS) samt deformerade *canales sesamoidales* (DCS). DCS beskrivs som invaginationer eller näringsfårar som går in strålbenet och förser benet med näringsämnen (Little & Schramme, 2007). Dessa tre tas upp senare i texten.

Lika viktigt som att följa dessa åtgärder för att lokalisera hältan till strålbenet och omkringliggande vävnader, är det att kunna exkludera andra möjliga bidragande problem. Som inledande process i hältutredningen bör därför alltid hästarnas generella benstruktur undersökas, och då särskilt hovens utformning och hur hästen är skodd (Rose, 1995). Exempelvis är det vanligt att kapplöpningshästar är verkade med långa tår och låga trakter. Detta resulterar i att dessa hästar får ett ökat tryck på strålbenet, vilket kan ge hästarna problem som kanske annars inte hade uppstått. På grund av detta ska hästarna undersökas noggrant, där man utgår utifrån hovarna och sedan arbetar sig uppåt längs benet (Rose, 1995).

Hältutredning

Vid utredning av hälsa då ND misstänks utför man olika tester på hovarna. Bland annat börjar hovtesterna med att tryck appliceras på hovsulan och hovväggen för att hitta smärtsaker lokaliserade till sulan. Det är inte ovanligt att hästarna, som senare diagnosticeras med ND, visar på

smärta i hovens tå. Detta beror på att dessa hästar förändrar sitt rörelsemönster på grund av smärta, och landar på ”tån” först för att avlasta hovens häl där smärtan sitter. Det är dock bara en tredjedel av alla hästar som diagnosticeras med ND som visar på smärta vid hovtesterna, vilket gör att en häst som inte reagerar med smärta på testerna inte kan förklaras fri från ND. Hovtesterna bör därför endast ses som hjälpmedel vid diagnosticering (Rose, 1995). Ytterligare tre hovtester kan användas vid diagnosticering (Tabell 1).

Tabell 1. Beskrivning av ytterligare hovtester som kan användas vid diagnosticering (Rose, 1995)

Utsträckningsprov	Skapar överstreckning i hov och karled	50% av hästar med ND får förvärrad hälta, testet är därav bra om hältan är svårlokaliserad
Böjprov	<ul style="list-style-type: none"> • Böjning av falanger och kota • Det mest tillförlitliga provet 	<ul style="list-style-type: none"> • Hästar med både kothältor/falangeala problem kommer visa försämrad hälta efter böjning. • Hästar drabbade av kothältor/falangeala problem kan dock urskiljas från hästar med ND, pga. att hästar med kothältor visar smärta under böjning, medan hästar med ND endast visar försämrad hälta efter provet, men är smärtfria vid själva böjningen.
Kilprov	Kil placeras under hovens stråle för att ge tryck på hovens häl	Hästar med ND får med stor sannolikhet försämrad hälta, vilket då pekar mot att hästen är drabbad av ND.

Det tredje kriteriet för diagnosticerad ND är som ovan angivet att hältan helt ska elimineras vid nervblockering, vilket är avgörande för att kunna fastställa ND. Genom att blockera hovens centrala nerver ska den häst som utreds bli helt hältfri, om ND är det huvudsakliga problemet till hälta. Är testet negativt, att hästen inte blir smärtfri efter nervblockage, kan diagnos om ND inte ställas (Rose, 1995).

En sista åtgärd som kan bestyrka resultaten av hovtester och nervblockering är röntgenbilder. Röntgen ska dock enbart genomföras efter att alla de tester som beskrivits ovan har genomförts. Röntgenbilder är dock enskilt inte tillräckliga för en diagnosticering, men är användbara för att hitta förändringar i strålbenet och med hjälp av det möjliggöra en klassificering av sjukdomsgraden (Rose, 1995).

Högt intramedullärt tryck

1983 gjordes en studie som undersökte om hästar med ND hade högre tryck och längre tryckfallstider i strålbenet än friska hästar har. Studien inkluderade fyra grupper av hästar; 1) helt friska hästar, 2) hästar som diagnosticerats med ND, 3) hästar som fått sin tåvinkel förändrad med cirka 3,5 grader, vilket även förändrade tåaxeln, 4) en häst som behandlats på samma vis

som grupp 3, men förändringen i tåaxeln berodde här istället på en dubbelsidig desmotomi på huvudfästet av djupa böjsenan (Smith & Svalastoga, 1983).

Tryckmätningar i benmärgen utfördes på frambenens strålben med hästen sövd och liggandes på sidan, med hjälp av en insatt nål i det överst liggande benet. Mätningen följdes av ett böjprov, varefter man noterade tryckfallstiden. Samtidigt som tryckmätningen gjordes, noterades också blodtrycket (Smith & Svalastoga, 1983).

Efter mätningarna kunde en tydlig skillnad ses mellan hästar med och utan ND, då de hästar som var kliniskt diagnosticerade för ND markant fick förstärkta symptom. Resultaten visade dessutom en statistisk signifikant skillnad mellan den friska och sjuka gruppen, men inte mellan den friska gruppen och kontrollgruppen. Tryckfallstiden hos de sjuka hästarna var också signifikant högre än hos de friska respektive kontrollgruppen (Smith & Svalastoga, 1983).

Slutsatsen av studien var att hästar med strålbenshälta har ett ökat intramedullärt tryck och en längre tryckfallstid i strålbenet. Smith & Svalastoga (1983) anger att detta har stora likheter med liknande studier gjorda på människor drabbade av artros, och kan karaktäriseras som en arteriell hyperemi med nedsatt flödes hastighet. Detta medför då venös ”stockning”, alltså en venös ischemi. Hyperemi definieras som ökat blodflöde till följd av ett organ eller en vävnads behov av syre. Exempelvis ökar syrebehovet i ett organ eller en vävnad efter en tillfällig blockering av en artär (Olivecrona, 2007).

Smith & Svalastoga (1983) uppger också att fel verkning av hästens hovar kan medföra förhöjt tryck i strålbenet. Trots att man inte kan säga om detta tillstånd, som förövrigt kan fortlöpa utan kliniska symptom, är reversibelt, så pekar det på hur viktigt det är med tidig och korrekt hovvård. Dålig utformning och balans i hoven, särskilt formen med lång tå och låg trakt, ihop med en bakåtbruten hovledsaxel, har historiskt sett ansetts vara en mycket viktig och avgörande riskfaktor för utvecklandet av ND (Baxter *et al.*, 2011).

Genetiska studier

Sjukdomens ärftlighet hittades det bevis för redan 1986, dock konstaterades att röntgen av hingstarna inte gav något prediktivt värde för hingstarnas benägenhet att nedärva sjukdomen till sin avkomma (Bos *et al.*, 1986). Det har även rapporterats att ND är vanligare förekommande hos hingstar och valacker än hos ston, dock är det osäkert om det rör sig om en faktisk könsskillnad, eller om det egentligen enbart handlar om att ston med kronisk hälta ofta pensioneras och sätts i avel. Dessa registreras då inte för ND, varför de inte syns i statistiken (Rose, 1995).

Enligt Jordbruksverkets föreskrifter (SJVFS 2009:28 Saknr L 115) gällande avelsarbete är det idag inte tillåtet att avla på djur ”som visat sig nedärva letalanlag, defekter eller andra egenskaper som medför lidande för avkomman eller negativt påverkar avkommans naturliga beteende eller som med stor sannolikhet nedärver sådana anlag, defekter eller egenskaper”. En av de defekter som inkluderas av denna föreskrift är strålbenshälta (ND). (SJVFS 2009:28)

Flertalet QTL associerade med patologiska förändringar av strålbenet

År 2007 gjordes en studie med syftet att identifiera QTLer för patologiska förändringar i strålbenet hos Hannoveranare. I studien användes 17 paternella halvsyskongrupper. Totalt ingick 192 individer, vilka analyserades i en helgenomskanning. 144 av de 192 individerna var avkommor (132) eller barnbarn (12), som hade valts ut slumpmässigt. Resterande individer var tolv av de 17 hingstarna och 36 av avkommornas mödrar. I studien undersöktes tre egenskaper: deformerade canales sesamoidales (DCS), patologiska röntgenförändringar i konturen (RAC) samt i strukturen (RAS) av strålbenet. Samtliga avkommor och barnbarn röntgades på båda frambenen för att kunna värdera utseendet och utformningen av strålbenen, samt utspridningen av DCS, hos de olika individerna (Diesterbeck *et al.*, 2007).

Helgenomskanningen för att hitta QTL-regioner genomfördes genom att välja starkt polymorfa mikrosatelliter som gav en jämn täckning över hästkromosomerna, och efter deras informationsinnehåll. Ett tröskelvärde på fem alleler valdes och att heterozygositet och polymorfisminnehåll skulle ligga över 50%. Sedan utökades densiteten för de valda mikrosatellitmarkörerna, som fått de högsta värdena i beräknade statistiska analyser. Totalt var detta 23 mikrosatellitmarkörer på hästkromosom två (ECA2), åtta på ECA3, 13 på ECA10, och åtta på ECA15 som adderades i de regioner som förmodades innehålla QTL. Genomiskt DNA isolerades sedan ur blod- eller tagelprover, varefter en PCR utfördes (Diesterbeck *et al.*, 2007). För att analysera markörgenotyperna faktionerades PCR-produkterna efter storlek med hjälp av gelelektrofores (Diesterbeck *et al.*, 2007).

Resultaten påvisade kromosom-omfattande signifikanta QTL för DCS på ECA3 och 10. För konturegenskapen (RAC) hittades kromosom-omfattande signifikanta QTL på ECA2, 3, 4, och 26, och för strukturegenskapen (RAS) på sex kromosomer (ECA4, 7, 26, 29, 30 och 31). Dock skall noteras att RAS endast visade signifikans för ett av två statistiska test som utfördes, där DCS och RAC var signifikanta för båda testen. På de QTL som visat association till DCS utfördes också en Bonferronikorrektion, vilket visade på en genom-omfattande signifikans för regionen 45,50-49,80 cM (Diesterbeck *et al.*, 2007). Utöver detta hittades också ett gemensamt QTL för egenskaperna DCS och RAC på 30,2 cM, och möjligtvis 72 cM, på ECA3, vilka enligt Diesterbeck *et al.* (2007) kan innehålla gener som är involverade i de båda defekterna. Detta kan bero på överlappande förhållanden av DCS och RAC, eller på olika gener som är placerade nära varandra. (Diesterbeck *et al.*, 2007)

Genetiska likheter mellan förändringar i strålbenskontur hos häst (RAC) och artros hos människor

Samma paternella halvsyskongrupper användes i en studie 2009, med syftet att förfinas det QTL för RAC som hittats på ECA2. I studien genotypades 58 mikrosatelliter, vilka inkluderade 18 tidigare publicerade mikrosatelliter och nio stycken nya, som var jämnt fördelade över hela ECA2. Associationen mellan RAC och mikrosatellitmarkörerna, uppskattades genom statistisk analys av de drabbade djurens allelproportioner som delades genom nedärvning (Lopes *et al.*, 2009). Datorprogrammet SAS/genetic användes för att värdera genotyperna och

kunna bestämma heterozygositeten, det polymorfa informationsinnehållet och Hardy-Weinberg-jämvikten (Lopes *et al.*, 2009).

Resultatet visade att mikrosatelliten *ABGe342*, som låg på 34,42 Mb, innehar signifikant genom-omfattande association till RAC. Utöver detta påvisades också att flertalet av mikrosatellitmarkörerna är signifikant associerade till RAC på kromosom-omfattande nivå, och minst två enskilda haplotyper var signifikant associerade till sjukdomen (Lopes *et al.*, 2009). Regionen på ECA2 som ligger mellan 28,43 - 47,92 Mb (där *ABGe342* ligger) är synteniskt associerad till människans kromosom 1p35-p36 (Lopes *et al.*, 2009). Gener i denna region är kopplade till mänsklig artros, vilken liknar ND (Diesterbeck *et al.*, 2007). Ytterligare en koppling till mänsklig artros hittades av Demissie *et al.* (2002) på människans kromosom 19, som innehåller kandidatgenen *TGFβ1* (Transforming growth factor, beta 1). Kromosom 19 hos människor är enligt Diesterbeck *et al.* (2007) synteniskt associerad med ECA10 hos häst, och uppger att felreglering av kandidatgenen *TGFβ1* kan resultera i programmerad celledöd (apoptos). De likheter som finns med mänsklig osteochondros kan således vara till hjälp för att hitta de gener som har orsakssamband till utvecklandet av ND (Diesterbeck *et al.*, 2007).

Intressanta kandidatgener för deformationer i strålbenet (DCS)

Lopes *et al.* (2010) gjorde en vidare studie av de QTL som hittats av Diesterbeck *et al.* (2007). I denna studie lades fokus på utvecklandet av deformerade canales sesamoidales (DCS) på ECA10, där syftet var att förfinas QTL som låg på 4,80 cM och 45,5-55,0 cM med hjälp av ett tätt och informativt markörset. I den tidigare studien av Diesterbeck *et al.* (2007) kunde två stycken QTL associeras till DCS på ECA10, vilka kartlades till den ena änden (telomeren) av ECA10 på 9,99Mb, samt vid 14,45 - 41,43 Mb (Lopes *et al.*, 2010). I studien användes samma 17 paternella halvsyskongrupper som använts av Diesterbeck *et al.* (2007), samt en utökad marköruppsättning innehållande 45 markörer, inklusive sju stycken nyutvecklade mikrosatelliter och 13 SNPs (single nucleotide polymorphisms). Screeningen som utfördes för att hitta SNPs genomfördes via komparativ sekvensering av genomiskt DNA från åtta obesläktade hingstar som var fäder till åtta av de 17 halvsyskongrupperna (Lopes *et al.*, 2010). De 7 nyutvecklade mikrosatelliterna och 13 SNPs som hittades fanns vara belägna inom positionella kandidatgener. Två av dessa var *IRF3* (interferon regulatory factor 3) och *VSTM1* (V-set transmembrane domain containing 1) (Lopes *et al.*, 2010). IRF3 proteinet medierar signaltransduktionsprocesser i reumatoid artrit (Yoshizawa *et al.*, 2008), och VSTM1 är en så kallad OSCAR-receptor (osteoclast associerad immunoglobulin-receptor) (Lopes *et al.*, 2010), vars uttryck har upptäckts i både omogna och mogna osteoklaster (Kim *et al.*, 2002). Osteoklaster är stora flerkärniga celler som bryter ned benvävnad (Sjaastad *et al.*, 2010). Statistiska analysmetoder användes därefter för att uppskatta kopplingen mellan röntgenfynden och de använda markörerna, således andelen alleler som delades på grund av nedärvning, för de drabbade djuren (Lopes *et al.*, 2010).

Resultaten visade att med hjälp av den ökade markördensiteten till totalt 45 markörer, så kunde närvaron av de båda QTLen, som var associerade till DCS på ECA10 för de Hannoveranska varmlblodsfamiljerna, bekräftas. Med hjälp av den utökade marköruppsättningen, inom

och närliggande till dessa regioner, kunde de även förfinas (Lopes *et al.*, 2010). De statistiska analyserna bekräftade att det fanns kromosom-omfattande signifikans för egenskapen, och resultaten gav också tillräckligt höga värden för att genom-omfattade signifikans skulle nå (Lopes *et al.*, 2010). Kopplingstesterna visade en signifikant genotypisk association med DCS på 23,06 Mb i *VSTM1*-genen. De djur som hade genotypen T/T var inte drabbade av DCS, i motsats till genotyperna C/T och C/C där förekomsten av DCS låg på 46,9% respektive 53,1% (Lopes *et al.*, 2010).

För en SNP på 19,44 Mb inom *IRF3*-genen fanns en uppenbar signifikant allelisk association till DCS. För ytterligare två SNPs på 19,44 Mb inom *IRF3*-genen fanns också signifikanta haplotypassociationer. Där visade sig haplotypen G-G vara signifikant mer förekommande hos hästar fria från DCS, och haplotyperna A-G och G-T signifikant ofta förekommande hos hästar drabbade av DCS. Resultaten styrker således att QTL-regionen på ECA10 vid 14,45 - 36,37 Mb är kopplat till DCS (Lopes *et al.*, 2010).

SNPs inom de två kandidatgenerna *IRF3* och *VSTM1* var i kopplingsojämvikt med DCS och detta samband mellan familjer indikerar att dessa två kandidatgener är värdefulla för fortsatt detaljerad analys (Lopes *et al.*, 2010). Lopes *et al.*, (2010) uppger således att denna studie presenterar ett viktigt steg mot att kunna identifiera QTL-relaterade kandidatgener associerade till DCS på strålbenet hos Hannoveranare. Ytterligare identifiering av polymorfism i dessa kandidatgener skulle förtydliga den roll de spelar för ND (Lopes *et al.*, 2010). Sammanfattningsvis uppger Lopes *et al.* (2010) att studien är ytterligare ett steg mot att få reda på mekanismen som reglerar bildandet av DCS i strålbenet hos Hannoveranare.

Diskussion

Syftet med litteraturstudien var att undersöka den genetiska bakgrund som hittills hittats gällande strålbenshälta (ND) hos häst. Då det är en komplex sjukdom som verkar ha många bidragande orsakskomponenter har det från början funnits skilda uppfattningar om vad sjukdomen beror på. Min uppfattning är således att ju längre man kommer i genetiska studier, desto bättre och mer omfattande helhetsbild av sjukdomen kommer att erhållas.

Det faktum att vissa raser, som Rose (1995) uppger, är mer mottagliga, är en god indikation på att det finns genetiska riskfaktorer. Enligt Jordbruksverket (SJVFS 2009:28 Saknr L 115) är det idag inte heller tillåtet att avla på djur som nedärver defekter, vilket ger stöd för att sjukdomen även bör behandlas ur djurvälståndssynpunkt. I min mening handlar inte detta enbart om att hästen drabbas av smärta och hästågaren av dyra veterinärräkningar, utan jag anser att det är ytterst viktigt att beakta avel ur etisk synpunkt, vilket Jordbruksverket gjort när de tagit fram sina föreskrifter. Att avla på sitt sto för att man håller henne kär, bör inte vara grunden för att avla, det viktigaste är att fölet blir friskt.

Orsaken till ND har diskuterats under lång tid, och de två huvudsakliga grenarna säger att sjukdomen liknar artrit, eller är en ischemisk sjukdom förknippad till blodflödet (Rose, 1995). De genetiska studier som gjordes av Lopes *et al.* (2009 & 2010) stödjer teorin om kopplingar

till artrit, och Diesterbeck *et al.* (2007) uppger att de likheter som finns med mänsklig osteochondros kan vara till hjälp för att hitta de gener som har orsakssamband till utvecklandet av ND. Dock uppger Dyson *et al.*, (2011) att lång vila och stillastående för hästar kan vara upphov till smärta och således hälta, vilket enligt min uppfattning är kopplat till blodflödet i hoven om hästen inte motioneras. Det finns således stöd för de båda teorierna.

De hästar som diagnosticeras för ND har ofta haft en kronisk hälta som förvärras över tid, och som förbättras då hästen får vila, men som sedan följs av ytterligare en förvärring i samband med igångsättning (Rose, 1995). Av de erfarenheter jag själv stött på, tycker jag att detta mönster ses relativt ofta, vartefter många hästar slutligen tas bort. Jag har personligen inte haft insyn i dessa hästars veterinärjournaler, men då mönstret påminner om Rose (1995) beskrivning, är min tanke att många hästägare inte går till botten med de hältproblem som finns hos hästarna. Om problemet uppstår hos flertalet hästar, bör därför en omfattande analys av rutiner genomföras, och likheter och olikheter mellan olika hästars hältor observeras. Det är dessutom vanligt att ston som blivit skadade/halta sätts i avel, vilket i dessa fall riskerar att föra vidare defekta gener. Rose (1995) och Baxter *et al.* (2011) uppger även att hovens verkning och balans är en viktig riskfaktor kopplad till ND, varför jag anser att den hovslagare som anlitas och dennes kompetens bör vara avgörande. Kanske gör denne något speciellt vid verkning, eller skulle någon annan göra arbetet bättre? Det är enligt min mening värt att se över.

Rose (1995) uppger också att de hästar som drabbats av ND ofta får en förvärrad hälta om de tvingas svänga tvärt, och att sjukdomen är vanlig hos quarterhästar. Dessa två iakttagelser gällande sjukdomen, får mig att tänka på de rörelser som quarterhästar utför då de används i westernridningen. Många tvära vändningar och snabba accelerationer, följt av en ny tvär vändning eller ett snabbt stopp, i tävlingar eller vid vallning av nötkreatur. Kanske spelar miljön en stor roll när quarterhästar drabbas. Jag funderar över om dessa hästar hade drabbats om de använts i en annan typ av ridning, och jag tänker mig att svaret är både Ja och Nej, eftersom det till stor del beror på individens känslighet och individuella genuppsättning.

Vidare uppger Rose (1995) de inklusions- och exklusionskriterier som finns för sjukdomen. Dessa steg är viktiga för att veta att man undersöker och behandlar hästar med samma sjukdom. Detta är givetvis viktigt, både för att ha en definition av sjukdomen i sig, för att kunna precisera undersökning och behandling så bra som möjligt, men också för att den forskning som bedrivs på området ska vara framgångsrik. Personligen finner jag det intressant att man kan urskilja de hästar som är drabbade av ND och de som lider av annan frambenshälta så enkelt som genom hur de reagerar vid böjproven. Ju fler test som kan utföras, desto säkrare diagnos bör kunna ställas, och desto bättre behandling är möjlig att ge till den individuella hästen.

Det faktum att Smith & Svalastoga (1983) fann att hästar diagnosticerade med ND har högre intramedullärt tryck i strålbenet och längre tryckfallstid än friska hästar, är ett resultat som stödjer den artrit-kopplade teorin, då liknande studier på artrosdrabbade människor gett samma slutsats. Dock beskriver de även att detta resultat kan karaktäriseras som en arteriell hyperemi, vilket ger en venös stockning, som således är detsamma som en venös ischemi.

Kanske behöver det alltså inte vara så att de två teorierna måste vara varandras ”motståndare”, utan de kanske faktiskt går hand i hand? Genetiken skulle möjligtvis kunna grunda sig i artrit, men kanske kan det finnas många riskfaktorer som exempelvis har med just motion och stillastående att göra?

Den ischemiska teorin skulle kunna kopplas till det sätt vi vanligast håller våra hästar i dagens samhälle, i box och i många fall med ganska kort tids utevistelse. Kanske är det för stor kontrast mellan att stor del av dygnet spenderas stillastående i en box, följt av ett någorlunda kort och intensivt ridpass som sedan följs av nytt stillastående? Enligt Dyson *et al.* (2011) kan en utlösande faktor till sjukdomen vara påtvingad vila under en längre tid, vilket då inte är helt olik hästar som väldigt stor del av dygnet står i box. Personligen tycker jag att det hade varit intressant att göra en studie på förekomsten av ND mellan hästar som går i lösdrift jämfört med stallinhysta hästar. Om skillnad finns, hade kort utevistelse och små hagar varit en logisk riskfaktor för ND.

Gällande de genetiska studier som utförts av Diesterbeck *et al.* (2007), hade jag önskat en förklaring till varför endast 12 av de 17 hingstar som användes i studien blev genotypade. Trots att resultaten visade signifikanta associationer till DCS, RAC och RAS, hade jag då uppfattat studien och dess resultat mer trovärdiga. Kanske hade signifikansen för DCS och RAC varit mer, alternativt mindre, extrem om samtliga hingstar deltagit? Dessutom hade det faktum att RAS endast visade signifikans för ett av de två statistiska testen möjligtvis visats vara annorlunda om alla hingstar hade genotypats. Eftersom samma paternella halvsyskon-grupper användes i studierna av Lopes *et al.* (2009 & 2010) hade det varit intressant att upprepa både Diesterbeck *et al.* (2007) och Lopes *et al.* (2009 & 2010) studier, men då genotypa samtliga hingstar som används, och undersöka om samma resultat uppnås.

Det faktum att Lopes *et al.* (2009) hittade en signifikant associerad mikrosatellit till RAC på genom-omfattande nivå, samt ytterligare mikrosatellitmarkörer och minst två haplotyper som är kopplade till sjukdomen, är ett stort steg mot att förstå mer av genetiken bakom ND. Att den signifikanta mikrosatelliten *ABGe342* ligger i en region synteniskt kopplad till mänsklig artros, stödjer också den artrit-kopplade teorin till ND. Det verkar således vara ett bevis på att strålbenets kontur kan ha betydelse för en hästs insjuknande.

2010 valde Lopes *et al.* istället att fokusera på associationen till ND för DCS på ECA10, och resultaten visade signifikant association med DCS i *VSTM1*-genen. Då genen är en så kallad OSCAR-receptor (Lopes *et al.*, 2010), vars uttryck upptäckts i både omogna och mogna osteoklaster (Kim *et al.*, 2002), som bryter ned benvävnad (Sjaastad *et al.*, 2010), verkar alltså utbredningen av DCS leda till nedbruten benvävnad, och således ett skadat strålben. Resultaten visade också att de hästar som hade genotypen T/T inte var sjuka i ND, men de som hade genotyperna C/T och C/C låg förekomsten av DCS på 46,9% respektive 53,1%. Detta tyder på att nedärvingen av genen är dominant eftersom även heterozygoten drabbas av DCS. Procentsatserna för C/T och C/C tyder dessutom på att genotypen C/C är den som blir värst drabbad. Det faktum att T/T inte drabbas av DCS signalerar att den ligger mycket nära den mutat-

ion som ger DCS. Allelen "C" är således en markör, som jag dock uppfattar inte har så hög penetrans med sina 53,1%, vilket bör tyda på multifaktoriella drag.

Resultatet visade också en tydlig signifikant allelisk association till DCS för en SNP inom *IRF3*-genen. Dessutom hittades signifikanta haplotypassociationer för ytterligare två SNPs inom samma gen. Hästar som inte var drabbade av DCS hade signifikant oftare haplotypen G-G, och hästar drabbade av DCS visade sig signifikant ofta ha haplotyperna A-G och G-T. Detta tyder alltså även här på dominant nedärvning, eftersom de haplotyper som inte är homozygota G-G, drabbas av DCS. Identifieringen av *IRF3*-genen som genetisk riskfaktor för DCS, och dess koppling till reumatoid artrit (Yoshizawa *et al.*, 2008), är en mycket stark indikation på att det finns en immunologisk komponent vid utvecklandet av sjukdomsförloppet.

Demissies *et al.* (2002) hittade en association till mänsklig artros på människans 19e kromosom, innehållande kandidatgenen *TGFβ1*. Kandidatgenen är enligt Diesterbeck *et al.* (2007) kopplad till ECA10, och uppger att *TGFβ1* kan resultera i apoptos. Möjligtvis skulle en association till *TGFβ1* kunna ha ett logiskt samband till skador och deformation på strålbenet, om en del av sjukdomen således hade apoptotiska inslag. Det skulle därför vara intressant om vidare studier gjordes, där *TGFβ1*:s association till ND undersöktes.

Slutsats

Slutsatsen som kan dras av denna litteraturstudie är att ND hos häst är en komplex sjukdom som vid varje misstänkt fall kräver omfattande hältutredning. Tack vare de genetiska studier som hittills utförts har man kommit en bit på vägen till att förstå det genetiska innehållet som reglerar sjukdomen. Ju mer genetisk information som kan kartläggas, desto fler riskfaktorer kan uppmärksammas. Detta är i sin tur betydande för att undvika att avel bedrivs på individer som nedärver defekta anlag till sin avkomma. I slutändan är varje sjukdom som våra djur drabbas av en djurvälfråga som både våra djur och dess ägare har intresse i att bekämpa. Av den anledningen ser jag fram emot och hoppas på fler publikationer om den genetiska bakgrunden till ND.

Referenser

- Baxter, G.M., Stashak, T.S., Belknap, J.K., (2011). Lameness in the extremities, the foot. In: Baxter, G.M, ed. *Adams and Stashak's Lameness in Horses*, 6th ed, Blackwell Publishing, Colorado, ss. 476.
- Bos , H., van der Meij, G. J. W., Dik, K. J. (1986). Heredity of navicular disease, *Veterinary Quarterly*, vol. 8, ss. 68-72.
- Demissie, S., Cupples, L. A., Myers, R., Aliabadi, P., Levy, D., Felson, D. T. (2002). Genome scan for hand osteoarthritis - the Framingham study. *Arthritis & Rheumatism*, vol. 46, ss. 946-952.
- Diesterbeck, U. S., Hertsch, B., Distl, O. (2007). Genome-wide search for microsatellite markers associated with radiologic alterations in the navicular bone of Hanoverian warm-blood horses. *Mammalian Genome*, vol. 18, ss. 373-381.
- Dyson, S., Murray, R., Schramme, M., Blunden, T. (2011). Current concepts of navicular disease. *Equine Veterinary Education*, vol. 24, ss. 27-39.
- Gabriel, A., Detilleux, J., Jolly, S., Reginster, J.-Y., Collin, B. and Dessy-Doizé, C. (1999). Morphometric study of the equine navicular bone: age-related changes and influence of exercise. *Veterinary Research Communications*, vol. 23, ss. 15-40.
- Jordbruksverket, SJVFS 2009:28, Saknr L115. *Föreskrifter om ändring i Djurskyddsmyndighetens föreskrifter (DFS 2004:22) om avelsarbete*. Jönköping. [Elektronisk]Tillgänglig:<http://www.jordbruksverket.se/download/18.26424bf71212ecc74b08000995/1370040445200/2009-028.pdf> [2015-05-26]
- Kim, N., Takami, M., Rho, J., Josien, R., Choi, Y., (2002). A novel member of the leukocyte receptor complex regulates osteoclast differentiation. *J. Exp. Med*, vol. 195, ss. 201-209.
- Little, D. & Schramme, M. C. (2007). "Diagnostic imaging". In: Floyd, A. & Mansmann, R. *Equine Podiatry* [Elektronisk] Elsevier Health Sciences, USA, ss. 142-144. Tillgänglig: https://books.google.se/books?id=if_7u1fBFIEC&pg=PA144&dq=canales+sesamoidales&hl=sv&sa=X&ei=xm8_VbSWBeefyAP_oCYBQ&ved=0CDgQ6AEwAw#v=onepage&q=canales%20sesamoidales&f=false [2015-04-29]
- Lopes, M. S., Diesterbeck, U., da Câmara Machado, A., Distl, O. (2009). Fine mapping a quantitative trait locus on horse chromosome 2 associated with radiological signs of navicular disease in Hanoverian warmblood horses. *Animal Genetics*, vol. 40, ss. 955-957.
- Lopes, M. S., Diesterbeck, U., da Câmara Machado, A., Distl, O. (2010). Refinement of quantitative trait loci on equine chromosome 10 for radiological signs of navicular disease in Hanoverian warmblood horses. *Animal Genetics*, vol. 41, ss. 36-40.
- Olivecrona, G. (2007). Coronary reactive hyperemia. [Elektronisk]. Clinical Sciences, Lund University. Lund, Sweden, vol. 75, ss.13. Tillgänglig:

<http://lup.lub.lu.se/luur/download?func=downloadFile&recordOId=548369&fileOId=548371>

Rose, R. J. (1995). Navicular disease in the horse. *Journal of equine veterinary science*, vol. 16, ss. 18–24.

Sjaastad, Ø.V., Sand, O., Hove, K. (2010). Physiology of domestic animals. 2nd ed. Scandinavian veterinary press, Oslo, ss. 263-264.

Smith, M., Svalastoga, E. (1983). Juxtaartikulært knoglemarvstryk ved hovsenebensbetændelse. *Svensk veterinärtidning*, vol. 35, ss. 141-146.

Yoshizawa, T., Hammaker, D., Sweeney, S. E., Boyle, D. L., Firestein, G. S. (2008) Synovio-cyte innate immune responses: I. Differential regulation of interferon responses and the JNK pathway by MAPK kinases. *The Journal of Immunology*, vol. 181, ss. 3252-3258.