



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjursgenetik

Polydaktyli hos häst - Vad vet vi om genetiken bakom?

Karin Häggmark



Examensarbete / SLU, Institutionen för husdjursgenetik,
473
Uppsala 2015

Examensarbete, 15 hp
– Kandidatarbete
(Litteraturstudie)
Kandidatprogrammet–
Husdjursvetenskap



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjursgenetik

Polydaktyli hos häst - Vad vet vi om genetiken bakom?

Polydactyly in Horses - What do we know about the genetic background?

Karin Häggmark

Handledare:

Göran Andersson, SLU, Institutionen för husdjursgenetik

Examinator:

Gabriella Lindgren, SLU, Institutionen för husdjursgenetik

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Kandidatarbete i husdjursvetenskap

Kurskod: EX0553

Program: Kandidatprogrammet–Husdjursvetenskap

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2015

Serienamn, delnr: Examensarbete / SLU, Institutionen för husdjursgenetik, 473

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

Nyckelord: Polydaktyli, Equin, Häst, falanger, embryonalutveckling, benutveckling, Sonic hedgehog.

Key words: Polydactyly, Equine, Horse, phalanx, embryonic development, limb development, Sonic hedgehog.

Sammanfattning

Polydaktyli är en medfödd missbildning där en individ får en eller flera falanger mer än vad som är normalt hos arten. Defekten uppkommer under den embryonala utvecklingen och är sporadiskt förekommande hos häst. Hos människa tillhör den däremot en av de vanligaste hand- och fot- relaterade missbildningarna. Idag är kunskapen begränsad rörande den genetiska bakgrunden till polydaktyli hos häst. Forskningen om de genetiska faktorer som orsakar polydaktyli hos andra djurslag som t.ex. mus samt människa har kommit betydligt längre och flera mutationer i gener som styr utveckling av falanger och som är associerade till olika former av polydaktyli har identifierats. Bland några fall som dokumenterats på häst har enbart extra falanger konstaterats och därefter behandlats genom amputation utan vidare undersökning. Då missbildningen ofta är associerad med andra sjukdomar hos andra djurslag, exempelvis människa och mus, bör andra sjukdomar först uteslutas vilket även gäller hos häst. För framtida forskning behövs en mer noggrann fenotypisk dokumentation och klinisk undersökning av individer med polydaktyli samt insamling av prover från drabbade individer så att genetiska studier kan utföras. Med hjälp av modern metodik så som Genome-wide association studies (GWAS) och Next Generation Sequencing (NGS) kan liknande framsteg förväntas även hos häst.

Abstract

Polydactyly is a congenital anomaly where one or more digits than usual are present. The defect occurs during the embryonic development in vertebrates with sporadic occurrence in horses. In humans the anomaly is one of the most common hand and foot related genetic defects. Among some of the few documented cases of polydactyly in horses the defect is first diagnosed and then treated with amputation with no further examination of the animal. Since the anomaly often is associated with other diseases in other species, for example humans and mice, this should also be taken into consideration in research aimed to uncover the genetic factors underlying polydactyly in horses. For future research the phenotypic documentation needs to be more accurate and the examinations of polydactylous horses more thorough as well as collection of biological samples for use in genetic studies. Mutations, candidate genes and QTLs associated with different forms of polydactyly have been found in other species. With modern methods such as Genome-wide association studies (GWAS) and Next Generation Sequencing (NGS) similar progress can also be expected in horses.

Introduktion

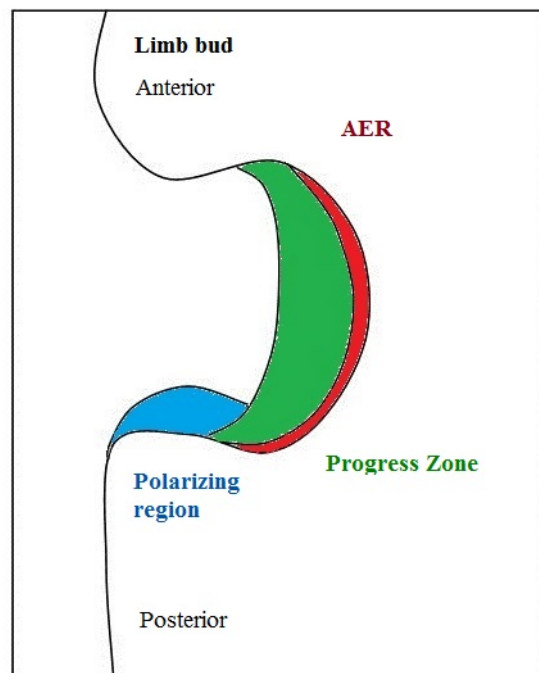
Polydaktyli är en medfödd missbildning av falangerna hos häst (Carstanjen. 2007), missbildningen är vanligare hos andra djurslag så som människa (Phadke, *et al.* 2010). Det tidigaste fallet som dokumenterats är från Alexander den Stores tid. Polydaktyli beror på en felaktig utveckling av falangerna under fosterstadiet vilket resulterar i att fler falanger bildas än vad som är normalt för djurslaget (Hantak, *et al.* 1986). Det har ännu inte fastställts varför polydaktyli hos häst uppkommer, men det finns en rad teorier till exempel autosomt recessiv och autosomt dominant nedärvning med olika hög penetrans (Johnson, *et al.* 1981; Villagomez, *et al.* 1998). Beroende på var den extra falangen sitter på hoven samt på vilket ben benämns missbildningen därefter. Det vanligaste hos häst är att den extra tån sitter medialt på de främre benen (Giofré, *et al.* 2004).

Hos människa är polydaktyli en av det vanligast förekommande missbildningarna relaterade till fingrar och tår som även här orsakas av en felaktig utveckling av de främre och bakre lemutskotten. Det är inte ovanligt att individer med polydaktyli har andra sjukdomar exempelvis Grieg Cephalopolysyndaktyli Syndrom och Pallister-Hall syndrom. En kartläggning gjordes år 2002 där Leslie G. Biesecker sammanställt sjukdomar med fenotypen polydaktyli som genetiker har identifierat. Biesecker listade 97 olika sjukdomar/tillstånd där 37 hade mutationer i en eller flera gener. Bland de gener som sammanställts är majoriteten transkriptionsfaktorer och DNA reparerande gener där gener inom Shh-Gli3 pathway är av stor betydelse (Biesecker. 2010).

Syftet med detta arbete är att svara på följande frågeställningar: Vad är känt om genetiken bakom polydaktyli hos häst idag? Har forskningen kommit längre inom andra djurslag? Vad kan man göra för att gå vidare inom forskning hos häst? Min hypotes är att polydaktyli hos häst beror på förändringar i gener som kodar för proteiner som ingår i liknande genetiska pathways som hos andra djurslag där den medfödda avvikelserna förekommer.

Hovens embryonala utveckling

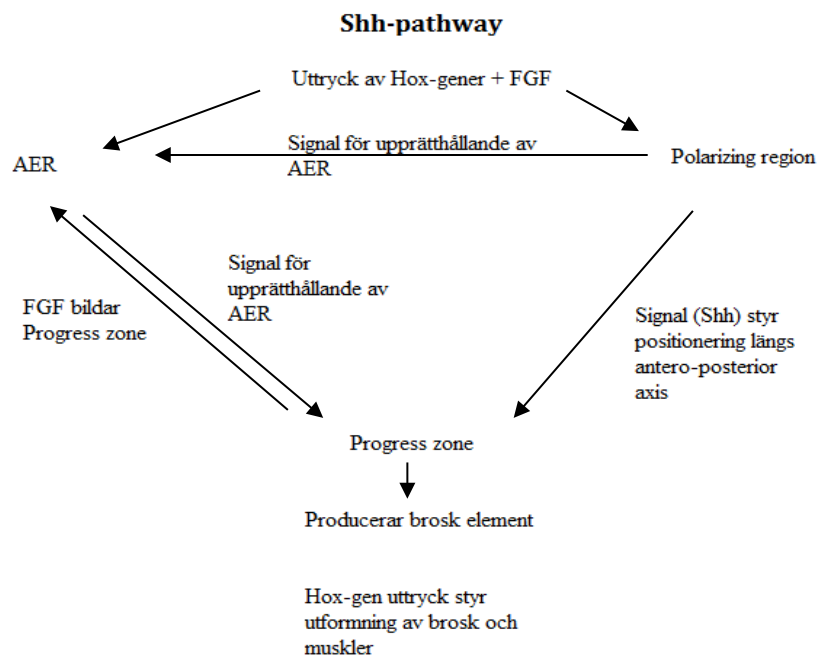
Från den ursprungliga fem-falangs morfologin (Penta-daktyl), har det skett en minskning i antalet falanger inom evolutionen även kallat, falangreduktion hos en rad olika djurarter, däribland häst som idag bara har en falang. Mekanismen bakom antalet falanger är helt beroende av när Sonic Hedgehog's (*Shh*) genuttryck avbryts i de bakre falangutskotten. I en studie av Cooper, K.L. testades vilken möjlig mekanism som låg bakom falangantalet hos häst. Där observerades genuttrycket hos gener som är kända för att vara associerade med den embryonala utvecklingen av lemmarna och falangerna, däribland *Shh*, *Ptch1*, *Gli1* och *HoxD13*. Hos dessa gener fanns ingen tydlig skillnad i genuttrycket jämfört med mus som har fem falanger. En TUNEL-assay utfördes genom att addera speciella enzymer som lägger till märkta nukleotider i DNA ändarna på DNA fragment. Dessa markörer kan sedan identifieras via immunohistokemisk infärgning vilket gör det möjligt att se celler som genomgår apoptos (Gavrieli, *et al.* 1992; Negoescu, *et al.* 1996). Dock sågs TUNELpositiva celler omkring den centrala tån och vid de perifera ändarna av metakarpalbenen för två nummer två och fyra, vilket tyder på förekomst av programmerad celledöd (apoptos) i dessa områden, vilket inte observerats hos mus (Cooper, *et al.* 2014). Hos människa är det känt att en mutation i *HoxD13*genen resulterar i en kombination av polydaktyli och syndaktyli då en eller flera falanger växt ihop (polysyndaktyli) (Sadler, T.W. 2012).



Figur 1. Armar och bens utveckling påbörjas i små utskott längs kroppen, så kallade "limb buds". (Häggmark, K. 2015. Inspirerad av Wolpert, L., et al. Fig. 10.10)

Under den tidiga embryonala utvecklingen formas, bland andra strukturer, lemmarnas utskott längs fostrets kropp där positionen bestäms av Hox gener (Sadler, T.W. 2012). Hox proteiner är även med och styr tillväxt av brosk. Det finns flera exempel på s.k. "knockout" möss där

olika *Hox*gener tagits bort genom homolog rekombination (Thomas, *et al.* 1986). Ett av dessa är knock-out möss för generna *Hoxa11* och *Hoxd11*. Detta resulterade i total avsaknad av underarmsben (radius och ulna). Om det däremot bara skulle vara att *Hoxd13*genen överuttrycks blev konsekvensen förkortade lårben (Wolpert, *et al.* 2002). En knockout mutation är en typ av s.k. "loss of function" mutation där aktiviteten av genen har förlorats helt. Andra typer av mutationer är s.k. "gain-of-function" där till exempel ett aminosyrautbyte eller en regulatorisk mutation som ger överuttryck av genen skapar en ny funktion. Loss-of-function eller gain-of-function mutationer i dessa gener kan då ge en förändrad utveckling av en rad olika strukturer hos ryggradsdjur (Sadler, 2012; Griffith, *et al.* 2012). Därefter börjar dessa utskott växa till för att forma fram och bakbenen. Detta regleras av den apikalt ektodermala ridge (AER) som utsöndrar Fibroblast growth factors (FGF) vilka upprätthåller en snabb celledelning i områdets "progress zone" (se figur 2). Zone of polarizing activity (ZPA) som ligger runt kanten på varje lem utskott (se figur 1). Cellerna i ZPA utsöndrar (sekreterar) retinol-syra (vitamin A) som binder till retinolsyrareceptorer, en transkriptionsfaktor som initierar transkription av *Shh* mRNA som kodar för en morfogen som i sin tur kontrollerar ordning och utformning av både fram och bakbens falanger (Sadler, 2012). Signaleringen av *Shh* är medierat av *Gli* transkriptionsfaktorer (Cao, *et al.* 2013). Denna pathway är beroende av en positiv feedbackloop där *Shh* upprätthåller uttryck av Gremlin 1 (*Grem1*) medan *Grem1* är en antagonist för FGF (Sheth, *et al.* 2013).



Figur 2. Shh-pathway Hox-gener och FGFs uttryck påbörjar bildning av AER, polarizing region (ZPA) och progress zone. AER upprätthålls med hjälp av Shh signalering till progress zone samt signaler från ZPA och progress zone. (Hägemark, K. 2015. Inspirerad av Wolpert, L., *et al.* ss. 349)

Yttre faktorer kan även påverka den embryonala utvecklingen. Ett klassiskt exempel är Talidomid (Neurosedyn) som gavs till havande mödrar mot illamående framförallt på 50- och 60 talen (Stephens, *et al.* 2000; Therapontos, *et al.* 2009). Therapontos utförde försök på möss

där de undersökte Talidomids påverkan på cellnivå. Talidomid är en teratogen vilken hämmar normal utveckling av blodkärlen samt en viss påverkan på nivåer av bland annat *Shh*, FGFs och Bone morphogenic protein (BMP) (som är med och styr apoptos). Detta resulterade i ökad apoptos och störningar i genuttryck på grund av den felaktiga utvecklingen av blodkärlen med missfall och en rad olika defekter däribland missbildade lemmar som följd (Therapontos, *et al.* 2009).

Genetiska analysmetoder

Genomet är uppbyggt av baspar där den enklaste formen av variation är på nukleotidnivå. Dessa variationer kallas Single nucleotide polymorphism (SNP) och finns utspridda över hela genomet. SNP:ar är bialleliska och hos människor finns en vanligt förekommande SNP på var 300 till 1000 baspar i genomet. De flesta SNP:ar förändrar inte fenotypen men en del av dessa SNP:ar ligger i kodande gener vilket kan skapa förändringar i den uttryckta fenotypen, SNP:ar kan användas i vidare analyser som genetiska markörer (Griffith, *et al.* 2012). Hos alla kvantitativa egenskaper, där två eller fler gener och även miljöfaktorer påverkar den uttryckta fenotypen. Dessa gener som bidrar till den fenotypiska variationen kallas Quantitative trait loci (QTL) (Falconer, D.S. & Mackay, T.F.C. 1996; Griffith, *et al.* 2012). Metoden förutsätter att det finns en kontinuerlig variation inom egenskapen. Vid sekvensering av hela genomet kan Genome-wide association study (GWAS) användas för att identifiera QTLer och kandidatgener. I en GWAS används en statistisk associationssekvensering med hjälp av markörer så som SNP:ar och mikrosatelliter. En GWAS kan med fördel utföras även utan kandidatgener (Griffith, *et al.* 2012).

Då det finns kända gener som är associerade till ben och falangutvecklingen har dessa använts som kandidatgener inom forskningen på polydaktyli. Där har även GWAS och QTL analys använts för att bekräfta och identifiera nya kandidatgener hos kyckling (Sun, *et al.* 2014). Om framtida forskare har tillgång till prover från drabbade hästar för genetisk analys är det möjligt att identifiera kandidatgener även hos häst.

Polydaktyli hos häst– fallstudier

Ett flertal hästar med polydaktyli har rapporterats in som fallstudier, däribland hästar från olika raser från olika delar av världen.

I en äldre Österrisk fallstudie från 1986 dokumenterades ett hingstfölet och dess moder med samma form av polydaktyli som nämnts ovan (bilateral polydaktyli). Hos stoet hade redan hovutskotten amputerats vilket senare även gjordes på fölet. Det hade inte varit en planerad parning. Fölets far hade inga medfödda missbildningar. En rutinundersökning av båda hästarna påvisade inte några övriga hälsoproblem dock hade stoet en andragsgrads hälta på sitt vänstra framben efter en tidigare fraktur (Hantak, *et al.* 1986).

I Italien föddes ett Murges-fölet med polydaktyli på den främre vänstra hoven. En röntgenundersökning genomfördes av hoven för att fastställa diagnos. Stamtavlan undersöktes för att se om det fanns någon annan drabbad släkting men ingen drabbad individ fanns hos de fyra generationer som stamtavlan visade. Den extra hoven som inte var fullt utvecklad

opererades bort utan komplikationer. För att kunna bekräfta den genetiska nedärvingen föreslås att dessa djur ska användas i aveln för att se hur avkommorna drabbas. Detta för att avgöra hur mycket som beror på genetiska faktorer och miljö. Det ger även en inblick i hur polydaktylin kan nedärvas (Giofré. 2004).

Ett annat fall hardokumenterats på ett föl från Frankrike, där individen hade två mindre extra hovar på insidan av vardera framben (bilateral polydaktyli). Enligt ägaren fanns inte missbildningen vid födseln utan upptäcktes först efter ett par veckor. Även här undersöktes fölet med röntgen för att fastställa diagnosen. Dessa två mindre hovutskott hade utvecklats från det andra metakarpal-benet i hoven. En dubbel amputation genomfördes av de två extra hovarna på begäran av hästägaren. Vid en uppföljning 18 månader senare var hästen helt återställd efter ingreppet (Carstanjen. 2007).

Polydaktyli hos andra djurslag - fallstudier

Lockwood et al. dokumenterade ett fall av två kattungar, som var kullsyskon, med bilateral polydaktyli på de bakre tassarna som kommit in för utvärdering. Vidare undersökning med röntgen av både bröstorg och både fram och bakben visade även deformerade armbågs- och karpalleder i de främre benen samt en generell hjärtförstoring hos båda katterna. Som uppföljning utfördes en till röntgen samt EKG av katterna vid cirka fem månaders ålder, detta för att kontrollera om det blivit någon försämring. Katterna skulle fortsättningsvis komma på regelbundna kontroller av deras hjärtan. I övrigt visade inte katterna något tecken på smärta i de drabbade områdena. Det tredje syskonet samt modern var helt normala enligt personen som hittat katterna (Lockwood, *et al.* 2009).

Ett fall hos hund av rasen Sankt Bernard som dokumenterats 1998, där fyra kullsyskon av totalt sex stycken drabbats av olika missbildningar. Samtliga drabbade valpar avlivades på ägarens begäran och undersöktes därefter *post mortem*. Generellt hade valparna samma form av defekter med små individuella avvikelser. Tre av de fyra hade sex stycken falanger på båda bak-tassarna. Alla drabbade valpar saknade helt eller till stor del ytteröron, innerörat var dock normalt samt missbildningar i munhålan där bland annat tungan var djupt delad i en fåra längs mitten från rot till tungspets. Enligt ägaren hade föräldrarna inga missbildningar och de hade parats fem gånger tidigare. Bland de valpar som fötts totalt hade 24 varit friska och 10 stycken varit missbildade. Enligt Villagomez et al. tyder detta på att det är en autosomalt recessiv mutation med full penetrans hos hundarna som är homozygota för mutationen (Villagomez, *et al.* 1998).

Hos människa har ett fall hos en marockansk familj med en till synes autosomalt dominant nedärvd bilateral polydaktyli där det utvecklats extra tummar och stortår. Utöver detta hade en stor del av patienterna även ihopväxta (syndaktyla) fingrar och tår. Blodprover togs från alla 13 drabbade och sex friska familjemedlemmar. Proverna analyserades genom att extrahera DNA för genomisk analys. Två polymorfa markörer kring varje kandidatgen analyserades. En gemensam heterozygot missense mutation i *Gli3* genen hittades hos samtliga drabbade personer (Volodarsky, *et al.* 2014).

Forskning inom Polydaktyli

Nötkreatur

På Simmental kor i USA utfördes ett avelsförsök med embryotransfer av ägg från polydaktyla kvigor som via *in vitro* fertilisering befruktats med semin från två olika tjurar. Den ena av tjurarna var fadern till de två kvigorna och den andra var en renrasig Hereford som inte haft någon avkomma med polydaktyli. Genom att ta ut fostren efter olika lång tid i dräktigheten kontrollerades vilka som hade polydaktyli eller inte. Resultaten tydde på att nedärvningen hos Simmental kor var dominant vid ett lokus och deras teori är att det är en autosomt dominant nedärvning med ofullständig penetrans (Johnson, *et al.* 1981).

Katt

Hos polydaktyla Maine Coon katter har det identifierats en punkt mutation även kallad "Hemingway mutant/mutation", hos katter med mutationen finns en rad olika fenotypiska varianter (polyfeni) där de extra falangerna kan sitta både symmetriskt och asymmetriskt med olika antal på olika tassar. Mutationen sitter på ett *cis*-regulatoriskt element av *Shh* genen. Polydaktylin hos dessa katter är autosomt dominant nedärvd med hög penetrans (Lange, *et al.* 2014).

Höns

I Kina har åtta kandidatgener och två stycken QTLer identifierats hos höns med polydaktyli genom en Genome Wide Association Study (GWAS) och Linkage analys. Även släktskap räknades in. Polydaktyli var känt förekommande inom de raser som användes och enbart drabbade individer togs med i studien. Samma kandidatgen, *Shh*, hittades hos hönsen som redan är känd att vara associerad med polydaktyli hos andra djurslag (se ovan). De tog även där upp hypotesen om att det är en dominant nedärvning med ofullständig penetrans som ligger bakom (Sun, *et al.* 2014).

Annan forskning som gjorts på polydaktyla silkiehöns där Johnson *et al.* tittat på konsekvenserna av en mutation i en Zone of polarizing activity regulatory sequence (ZRS) enhancer, vilket är en regulatorisk region som styr transkriptionen av *Shh* genen hos Silkiehönsen under embryonalutvecklingen. Analys av förändringar i koncentration av *Shh* protein och mRNA över tid utfördes vilket visade att det skedde en ökning i *Shh* uttryck hos bakbenen. Utöver detta ökades FGF's pathway signalering samt tillväxt. Detta påvisade att en manipulering av *Shh*'s uttryck ger som en sekundärkonsekvens polydaktyli på bakbenen (Johnson, *et al.* 2014).

Möss

På möss har det gjorts försök med en transkriptionsfaktorn *Etv5*, som uttrycks i en rad olika vävnader, bland annat testiklar och äggstockar där tidigare studier hos mus visat att *Etv5* är viktig för fertiliteten. *Etv5* har även en roll inom utvecklingen av njurarna samt kritisk för utvecklingen av de främre och bakre lemmarna via *Shh* pathways. I försöket gjordes en genetiska linkage analys med SNPpar för att lokalisera den kromosomala regionen för mutationen som ligger bakom fenotypen. En ny muslinje skapades som var bärare av en

nonsense mutation i exon 12 hos *Etv5* genen. Mutationen resulterade i att både honor och hanar blev sterila samt en rad olika missbildningar däribland polydaktyli (Jamsai, *et al.* 2013).

I en annan studie på möss utförde Quinn, M.E. et al. där de fokuserat på *Gli3* genen samt en Gli (Gliom-associerad onkogen homolog)-superfamilj medlem, *Zic3* genen. De demonstrerar att *Zic3* och *Gli3* överlappar i uttryck när det gäller lemmarna och falangernas utveckling. Hos *Gli3* mutantmössen där *Zic3* loss-of-function upphäver *Shh* uttryck i de främre lemuskotten och begränsar överuttryck i ZPA. Detta normaliserade *Gli3* repressor/aktivator kvoten hos embryon med genotypen *Gli3* +/- som observerades vara polydaktyla. Hos foster med genotypen *Zic3* noll;*Gli*+/- fanns inte någon polydaktyli. Utifrån resultaten ansåg Quinn, M.E. et al. att *Zic3* kan ha en reglerande effekt på falangantal under den embryonala utvecklingen genom sin effekt på *Gli3* och *Shh* uttrycksnivåer (Quinn, M.E., *et al.* 2012).

Cao, et al. utförde en studie på möss med en *Gli3*allel mutation där genen enbart uttrycks som en repressor när den kommer i kontakt med ett enzym (Cre rekombinas). Detta resulterade i att mössen med mutationen enbart utvecklade enstaka eller inga falanger alls. Detta liknar tidigare observationer hos *Shh* mutanta möss där inga falanger utvecklats på framtassarna medan bara den första falangen utvecklats på baktassarna (Cao, *et al.* 2013).

Människa

På människor har det identifierats ett lokus för trifalangeal tumme, vilket är associerat till pre axial polydaktyli. Furniss, D., et al. visar i sin studie att en variant i ZRS som tidigare setts som neutral visar sig vara dominant med reducerad penetrans. Utvecklingen av tummen är beroende av en *Gli3* gen då *Shh* inte uttrycks. Mutationen i ZRS gör att det blir ett ändrat uttryck av *Shh*. Den varianten hittades hos patienter med trifalangeal tumme. I studien fanns det både patienter med en historia av liknande missbildningar i släkten samt helt sporadiska fall utan någon tidigare drabbad släkting (Furniss, *et al.* 2008).

Diskussion

Genetik har intresserat mig mycket och just polydaktyli är intressant på grund av att det förekommer hos en rad olika djurslag där olika mycket forskning gjorts rörande de genetiska faktorer och möjliga miljöfaktorer som kan ha påverkat uppkomsten av polydaktyli.

Den genetiska bakgrunden till polydaktyli hos häst är relativt okänd idag, trots att defekten först dokumenterades för flera hundra år sedan (Hantak, *et al.* 1986). Bland de fallstudier som nämnts hos häst har individerna enbart fått den extra falangen bortopererad utan någon vidare undersökning (Hantak, *et al.* 1986; Giofré. 2004; Carstanjen. 2007). Då missbildningen är så synlig misstänker jag att drabbade djur valts att inte användas i avel och därmed inte fått någon vidare information om ärftligheten. Detta kan vara en bidragande faktor till varför det inte forskats inom ämnet på häst.

Då polydaktyli hos människa ofta är associerat till andra sjukdomar anser jag att framtida undersökningar bör vara mer noggranna av hästar med polydaktyli (Biesecker. 2010). I de fall som nämnts har de enbart fokuserat på den extra falangen och bekräftat med röntgen för att ställa sin diagnos, utan att gå vidare med eventuella andra mer djupgående undersökningar.

Däriigenom kan hästar blivit friskförklarade utan att någon grundligare undersökning utförts och därmed kan andra sjukdomar ha missats. Dock finns det skillnader i nedärvningsmönster och associerade sjukdomstillstånd mellan olika arter vilket måste beaktas.

Ur forskningssynpunkt är all form av sådan information intressant för att kunna gå vidare med framförallt den genetiska analysen. Hos andra djurslag har det hittats både kandidatgener och QTLer, samt att olika teorier har presenterats rörande nedärvnings av polydaktyli. Genom att använda modern metodik så som GWAS och NGS för genetisk analys kan liknande framsteg förväntas hos häst. Dock behövs att prover för DNA extraktion från framtida drabbade individer tas för att kunna göra en genetisk analys av dessa och på så sätt påbörja arbetet att hitta möjliga gemensamma genetiska faktorer så som mutationer. Något som forskningen inom de olika djurslagen har gemensamt är att en eller flera gener i *Shh* pathway verkar vara involverade om djuret får en defekt i antalet falanger som utvecklas.

Slutsats

Idag är den genetiska bakgrunden till polydaktyli hos häst okänd och därmed behövs en hel del forskning kring området. För att kunna gå vidare inom framförallt den genetiska forskningen behövs insamling av genetisk information från individer med polydaktyli för att kunna gå vidare med en djupare analys av eventuella mutationer som kan förekomma, så som kandidatgener och QTLer. Som tidigare nämnts skulle drabbade individer kunna användas som i övrigt genom grundlig undersökning visats vara helt friska i avel för att avgöra om och hur den nedärvs. Tillgång till eventuell stamtavla kan då ge ytterligare information kring nedärvningsmönster.

Hos andra djurslag har forskningen kommit olika långt. Med hjälp av både knockout möss och försök med mutationer inom *Shh* pathway har det hittats ledtrådar till vilka gener som är involverade. Även hos höns har det identifierats både kandidatgener och QTLer som misstänks vara associerade till den form av polydaktyli som förekommit inom den observerade rasen. Olika teorier kring hur polydaktylin nedärvs har även tagits fram för djurarter och även inom specifika raser. Defekter i någon eller några av de gener som ingår i *Shh* pathway kan alltså resultera i olika former av missbildningar under fosterutvecklingen, däribland polydaktyli.

Referenser

- Biesecker, L.G. (2011). Polydactyly: How many disorders and how many genes? 2010 Update. *Developmental Dynamics*, vol 240, ss 931-942.
- Carstanjen, B., Abitbol, M., Desbois, C. (2007). Bilateral Polydactyly in a foal. *Journal of Veterinary Science*, vol. 8, ss. 201-203.
- Cooper, K.L., Sears, K.E., Uygur, A., Maier, J., Bacskowski, K., Brosnahan, M., Antczak, D., Skidmore, J.A., Tabin, C.J. (2014). Patterning and post-patterning modes of evolutionary digit loss in mammals. *Nature*, vol. 511, ss. 41-45.
- Falconer, D.S. & Mackay, T.F.C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics*. 4th ed. Harlow: Longman Group Ltd. ss. 356.
- Furniss, D., Lettice, L.A., Taylor, I.B., Critchley, P.S., Giele, H., Hill, R.E., Wilkie, A.O.M. (2008). A variant in the sonic hedgehog regulatory sequence (ZRS) is associated with triphalangeal thumb and deregulates expression in developing limb. *Human Molecular Genetics*, vol. 17, ss. 2417-2423.
- Gavrieli, Y., Sherman, Y., Ben-Sasson, S.A. (1992). Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragments. *Journal of Cell Biology*, vol. 119, ss. 493-501.
- Giofré, F., Zanotti, M., Polli, M., de Giovanni, A.M. (2004). Polydactyly in a Murgesse horse: A Case Report. *Journal of Equine Veterinary Science*, vol. 24, ss. 248-250.
- Griffiths, A.J.F., Wessler, S.R., Carroll, S.B., Doebley, J. (2012). *Introduction to Genetic Analysis 10 ed.* W.H. Freeman and Company, USA.
- Hantak, S., Hantak, E. (1986). Bilateral atavistic polydactyly in a colt and its dam. *Equine Veterinary Journal*, vol. 18, ss 76-79.
- Jamsai, D., Clask, B.J., Smith, S.J., Whittle, B., Goodnow, C.C., Ormandy, C.J., O'Bryan, M.K. (2013). A missense mutation in the transcription factor ETV5 leads to sterility, increased embryonic and perinatal death, postnatal growth restriction, renal asymmetry and polydactyly in the mouse. *Public Library of Science*, vol. 8: e77311.
- Johnson, E.J., Neely, D.M., Dunn, I.C., Davey, M.G. (2014). Direct functional consequences of ZRS enhancer mutation combine with secondary long range SHH signalling effects to cause preaxial polydactyly. *Developmental Biology*, vol. 392, ss 209-220.
- Johnson, J.L., Leipold, H.W., Schalles, R.R., Guffy, M.M., Peeples, J.G., Castleberry, R.S., Schneider, H.J. (1981). Hereditary polydactyly in Simmental cattle. *The Journal of Hereditary*, vol. 72, ss 205-208.
- Lange, A., Nemeschkal, K.L., M ller, G.B. (2014). Biased pleiotropism in polydactylous cats carrying a single point mutation: The Hemingway model for digit novelty. *Journal of Evolutionary Biology*, vol. 41, ss. 262-275.
- Lockwood, A., Montgomery, R., McEwan, V. (2009). Bilateral radial hemimelia, polydactyly and cardiomegaly in two cats. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, vol 6, ss. 511-513.
- Negoescu, A., Lorimier, P., Labat-Moleur, F., Drouet, C., Robert, C., Guillermet, C., Brambilla, C., Brambilla, E. (1996). In situ apoptotic cell labeling by the

TUNEL method: improvement and evaluation on cell preparations. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, vol. 44, ss. 959-968.

- Phadke, S.R., Sankar, V.H. (2010). Polydactyly and genes. *Indian Journal of Pediatrics*, vol. 77, ss 277-281.
- Sadler, T.W. (2012). *Langman's Medical Embryology 12th edition*. Lippincott William & Wilkins, Maryland, USA.
- Sheth, R., Grégoire, D., Dumouchel, A., Scotti, M., My Trang Pham, J., Nemec, S., Félix Bastida, M., Ros, M.A., Kmita, M. (2013). Decoupling the function of Hox and Shh in developing limb reveals multiple inputs of Hox genes on limb growth. *Development*, vol. 140, ss. 2130-2138.
- Stephens, T.D., Bunde, C.J.W., Fillmore, B.J. (2000). Mechanism of action in thalidomide teratogenesis. *Biochemical Pharmacology*, vol. 59, ss 1489-1499.
- Sun, Y., Liu, R., Zhao, G., Zheng, M., Sun, Y., Yu, X., Li, P., Wen, J. (2014). Genome-wide linkage analysis and association study identifies loci for polydactyly in chickens, *G3 - Genes, Genome, Genetics*, vol. 4, ss. 1167-1172.
- Thomas, K.R., Capecchi, M.R. (1986). Introduction of homologous DNA sequences into mammalian cells induces mutations in the cognate gene. *Nature*, vol. 324, ss. 34-38.
- Villagomez, D.A.F., Alonso, R.A. (1998). A distinct Mendelian autosomal recessive syndrome involving the association of anotia, palate agenesis, bifid tongue, and polydactyly in the dog. *Canine Veterinary Journal*, vol. 39, ss. 642-643.
- Volodarsky, M., Langer, Y., Birk, O.S. (2014). A novel GLI3 mutation affecting the zinc finger domain leads to preaxial-postaxial polydactyly-syndactyly complex. *BMC Medical Genetics*, vol.15:110.
- Quinn, M.E., Haaning, A., Ware, S.M. (2012). Preaxial polydactyly caused by Gli3 haploinsufficiency is rescued by Zic3 loss of function in mice. *Human Molecular Genetics*, vol. 21, ss. 1888-1896.