

Et resumé af Leverdrejning (*Iobus sinister lateralis*) i grise: Et pilotstudie der undersøger, om der er en simpel genetisk baggrund

Rådgivningsnotat fra DCA – Nationalt Center for Fødevarer og Jordbrug

Albert Johannes. Buitenhuis¹, Hanne Kongsted², Trine Michelle. Villumsen¹, Mogens Sandø Lund¹

¹Center for Kvantitativ Genetik og Genomforskning, Aarhus Universitet

²Institut for husdyrvidenskab, Aarhus Universitet

Datablad

Titel:	Et resumé af Leverdrejning (<i>Iobus sinister lateralis</i>) i grise: Et pilotstudie der undersøger, om der er en simpel genetisk baggrund.
Forfattere:	Lektor Albert Johannes. Buitenhuis, Adjunkt Trine.Michelle Villumsen Professor M.S. Lund, Center for Kvantitativ Genetik og Genomforskning, AU. Forsker Hanne Kongsted, Institut for Husdyrvidenskab, AU.
Fagfællebedømmelse:	Seniorforsker Goutam Sahana, Center for Kvantitativ Genetik og Genomforskning, AU
Kvalitetssikring, DCA:	Specialkonsulent Johanna Höglund, DCA Centerenheden, AU
Rekvirent:	Fødevarestyrelsen
Dato for bestilling/levering:	29.04.2021 / 12.05.2022
Journalnummer:	2021-0237290
Finansiering:	Besvarelsen er udarbejdet som led i "Rammeaftale om forskningsbaseret myndighedsbetjening" indgået mellem Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri (FVM) og Aarhus Universitet under ID nr. 21-H1-07-02 "Ydelsesaftale Husdyrproduktion 2021-2024".
Ekstern kommentering:	Denne besvarelse har været i ekstern kommentering hos fødevarestyrelsen men ingen kommentarer fremførtes.
Eksterne bidrag:	Se forord for detaljer
Kommentarer til bestilling:	Ideen og hypoteserne i dette studie er baseret på resultaterne af et tidligere publiceret studie "Sygdomsmæssige og fysiologiske årsager til spontant døde søer i farestalden" Se LINK
Kommentarer til besvarelse:	Leveret første gang 05.05.2022. Genleveret pga slåfejl i titlen og en dobbelttastning af et par enkle ord. Besvarelsen er udarbejdet som et udkast til en artikel til et videnskabeligt tidsskrift, og kan pt. ikke formidles elektronisk af hensyn til mulighed for publikation. Nærværende besvarelse er et dansk resumé. Udkastet til den engelsksprogede artikel ("Liver lobe torsion (<i>Iobus sinister lateralis</i>) in pigs: A pilot study investigating a possible simple genetic background") kan tilsendes ved henvendelse. Notatet præsenterer resultater, som ved notatets udgivelse ikke har været i eksternt peer review eller er publiceret andre steder. Ved en evt. senere publicering i tidsskrifter med eksternt peer review vil der derfor kunne forekomme ændringer.
Citeres som:	Buitenhuis, A.J., Kongsted, H., Villumsen, T.M og Lund M.S. 2022. Leverdrejning (<i>Iobus sinister lateralis</i>) i grise: Et pilotstudie der undersøger, om der er en simpel genetisk baggrund. 6 sider. Rådgivnings notat fra DCA - Nationalt Center for Fødevarer og Jordbrug, Aarhus Universitet, leveret: 12.05.2022
Rådgivning fra DCA:	Læs mere på https://dca.au.dk/raadgivning/

Forord

Følgende personer og firmaer takkes for deres hjælp til udarbejdelsen af denne studie. SEGES Avl og Genetik har sat os i forbindelse med sobesætninger med både Landrace, Yorkshire og krydsningssøer, hvilket har været en forudsætning for at få adgang til solevere. Ni indehavere af sobesætninger har indvilliget i, at der må udtages levere fra deres søer, når de har sendt søer til slagtning, de har ligeledes udfyldt dokumenter for hver so, for at sikre, at søernes organer blev sendt til opmåling. Danish Crown i Skærbæk har sørget for udtagning af levere på slagtegangen og efterfølgende forsendelse til SEGES Laboratorium for Svinesygdomme, som har stået for al opmåling af solevere, samt udtagning af leverbiopsier til brug for genotypninger. SEGES Avl og Genetik har sørget for kontakt til genotypningslaboratoriet Neogene Ltd. i Skotland som har foretaget selve genotypningerne og har uploadet genotyperne til SEGES database. SEGES Avl og Genetik har efterfølgende sørget for at genotyperne blev leveret til QGG-AU. Svend Haugegaard, Landbrug og Fødevarer har leveret fotos til rapporten. Goutam Sahana har været fagfællebedømmer og har foretaget en kritisk og konstruktiv gennemgang af rapporten.

I projektet er der indgået en aftale mellem AU og Danish Crown om udtagning af solevere og transport af levere fra slagteriet i Skærbæk til SEGES Laboratorium for Svinesygdomme i Kjellerup. Der er ligeledes indgået en aftale mellem AU og SEGES Laboratorium for Svinesygdomme, omkring opmåling af solevere og udtagning af leverprøver. Der er også indgået en aftale med SEGES Avl og Genetik omkring genotypning af søerne på baggrund af leverprøverne. SEGES Avl og Genetik har indgået en aftale med landmændene om at oplysninger om søerne må deles med AU

Resumé

Dødeligheden hos søer i Danmark er cirka 15 % årligt, og dette antal har været stigende de seneste år (Jensen og Nielsen, 2021). Omkring 50 % af disse dødsfald er spontane og ofte uden forudgående symptomer (Sørensen og Thomsen, 2017). Mange af de spontant døde søer viser ingen ydre tegn, og efterlader således dødsårsagen uklar. De fleste spontane dødsfald foregår i farestalden, og i en nylig undersøgelse blev det vist, at en stor del (42 %) af de spontane dødsfald som blev observeret hos søer i farestalden, skyldes leverdrejning (Kongsted et al., 2021). En meget tidlig dansk undersøgelse i 1940 antydede, at leverdrejning kun er muligt hos søer med en særlige anatomiske karakteristika (fænotyper) af den yderste venstre leverlap som muliggør at den kan drejes (Emsbo, 1940).

Leverdrejning er en binær egenskab, der betyder, at der kun er 2 muligheder for denne fænotype: drejelig eller ikke-drejelig. I kombination med den høje frekvens af leverdrejning som dødsårsag hos søer, som blev fundet i undersøgelsen af Kongsted et al. (2021), kan man mistænke, at der kun er få gener, der ligger til grund for denne egenskab.

I den aktuelle undersøgelse undersøges følgende hypoteser:

1. om den ydre venstre leverlap (lobus sinistre lateralis) har en smal eller bred tilhæftning, dvs er drejelig eller ikke-drejelig, styres af nogle få identificerbare gener.
2. spontan død på grund af leverdrejning skyldes specifikke mutationer i gener- i få identificerbare gener
3. hvis generne identificeret under hypotese 1 og hypotese 2 er de samme, er det sandsynligt, at generne der påvirker leveranatomien og dermed drejeligheden er direkte årsag til dødelighed pga leverdrejning.

For at teste de forskellige hypoteser er der indsamlet fænotypiske karakteristika af solevere på søer der var sendt til slagtning. Der blev desuden udtaget levervæv fra alle søer, med henblik på genotypning. Genotypningen blev foretaget for at identificere små genetiske forskelle mellem grisene på specifikke steder i kromosomerne (DNA-markører) som efterfølgende kan hjælpe med at linke en fænotype til et specifikt gen. Genotyperne blev sammenholdt med fænotyperne for at identificere hvilke DNA-markører, der har indflydelse på de observerede fænotyper i en såkaldt associationsanalyse.. Et eksempel på en associationsanalyse for fx hypotese 1 er, at det er undersøgt om en specifik DNA-markør er hyppigere til stede hos grise med smal tilhæftning i forhold til hos grise med bred tilhæftning af ydre venstre leverlap. Associationsanalyserne blev udført enkeltvis for hver fænotype og hver af knap 38000 DNA-markør for at undersøge, om hver enkelt af markørerne var forbundet med den givne fænotype.

For at teste hypotese 1 indsamlede vi lever fra 83 Landrace (LL), 166 Yorkshire (YY) og 81 krydsninger af Landrace og Yorkshire (LY) søer på slagteriet og vurderede, om den ydre venstre lap (lobus sinister lateralis) var drejelig eller ikke-drejelig. Desuden blev der målt omkreds (cm) af den ydre venstre proksimale del (leverlap tilhæftning), bredden af den mest proksimale del af lappen (cm), maksimal bredde af lappen (cm) og maksimal længde af lappen (cm). For hver race og racekombination blev der udvalgt en undergruppe af søer på ca 22 søer med drejelige lever og tilsvarende antal med ikke drejelige lever, disse søer blev genotyperet og indgik case-kontrol associationsstudiet.

For at teste hypotese 2 anvendte vi væv fra selvødde LY søer fra et tidligere studie til genotypebestemmelse og case-kontrol associationsstudiet. Disse søer var obducerede, og på baggrund heraf forelå kendte dødsårsager (Kongsted et al. 2021). Cases: døde søer døde af lever drejning, Kontrol: døde søer døde af andre årsager.

For at teste hypotese 3 identificerede vi signifikante DNA-markører for, om 1) den venstre ydre leverlap (lobus sinister lateralis) har en smal eller bred tilhæftning, dvs. drejelig eller ikke-drejelig, og 2) de signifikante DNA-markører identificeret for søer, der dør spontant på grund af leverdrejning.

For at undersøge om de enkelte DNA-markører kunne associeres med de observerede fænotyper blev der anvendt forskellige statistiske metoder. I rapporten er der udført analyser inden for hver race for at identificere DNA-markører, der er specifikke for LL-, YY- og LY-populationerne. Der er også udført associationsanalyser på tværs af racer hvor alle søer fra LL-, YY- og LY-populationerne indgår. Dette forøger muligheden for at detektere en sammenhæng mellem DNA-markører og fænotyper. Data blev også analyseret i "two-trait meta-analyser", som er en metode, hvor der tages højde for sammenhængen mellem to fænotyper ved at analysere dem sammen. Dette er en metode der yderligere forøger muligheden for at identificere en sammenhæng mellem DNA-markører og fænotyper. I "two-trait meta-analyserne" blev egenskaberne drejelig lever og omkreds af den proksimale del af leverlappen analyseret sammen og en anden analyse blev drejelig lever og proksimale bredde af lever lappen analyseret sammen.

Formålet med dette case-studie er at undersøge, om nogle få gener har stor indflydelse på 1) venstre ydre leverlaps evne til at dreje sig og 2) risikoen for at dø af leverdrejning og desuden 3) om der er overlap mellem disse gener. For at undersøge dette har vi anvendt DNA-markører, anatomiske karakteristika samt optegnelser over søers dødsårsager.

Det er vigtigt at understrege, at case-studiet er designet til at bekræfte eller afkræfte, om der findes nogle få gener med stor indflydelse på leverlappens evne til at dreje, og om en so er død af leverdrejning.

Korrelationer mellem leverens egenskaber viste, at en leverlap med lille omkreds sædvanligvis har lille bredde proksimalt og en levertap med stor omkreds normalt har stor bredde proksimalt.

Associationsanalyserne for drejelig lever afslørede ikke nogen signifikante markører, hverken inden for race eller på tværs af racer Associationsanalysen for søer, der døde af leverdrejning (kun LY-dyr), afslørede heller ingen signifikante DNA-markører forbundet med leverdrejning som dødsårsag. Imidlertid afslørede "two-step meta-analyserne" på tværs af racerne 10 signifikante DNA-markører for egenskabskombinationen drejelig lever og bredde proksimalt og 30 signifikante DNA for egenskabskombinationen drejelig lever og omkreds. De tilsvarende analyser inden for hver race af egenskabskombination drejelig lever og bredde proksimalt, påviste 5, 0 og 38 signifikante DNA-markører for henholdsvis LL, YY og LY. For egenskabskombinationen drejelig leverlap og omkreds blev 3, 1 og 30 signifikante SNP-markører påvist for henholdsvis LL, YY og LY.

Konklusion: For hypotese 1 kan vi konkludere, at den genetiske sammensætning, der ligger til grund for 'drejbar lever', ikke er forårsaget af kun få gener med stor effekt. Anatomien er således, ikke forårsaget af få gener med stor effekt. For hypotese 2 kan vi konkludere, at det ikke har været muligt at identificere enkeltgener som har stor effekt på om søer, dør spontant på grund af leverdrejning. Dødsårsagen kan således ikke henføres til få gener med stor effekt. Hypotese 3 kunne ikke testes, da der ikke blev påvist signifikante enkeltgener under hypotese 1 og 2.

Det er stadig sandsynligt, at der findes gener som har betydning for leverens anatomi. Men resultater viser at der i så fald er tale om flere gener med hver enen lille effekt på anatomien. Dette blev understøttet af metaanalyserne hvor to egenskaber blev analyseret sammen for at øge sandsynligheden for at påvise signifikante DNA-markører. I disse metaanalyser blev der netop identificeret en række signifikante DNA-markører. Disse DNA-markører bør valideres i et større eksperiment for at opnå en større viden om DNA-markørernes effekt af på leveranatomi.

Vi fandt beviser for, at lever lap torsion har genetisk variation, men før vi kan vurdere, om det er relevant at bruge denne genetiske variation i praktisk avl, er der behov for en større studie.