

**OSTEOKONDROOSIN PERINNÖLLINEN VAIHTELU
SUOMENHEVOSILLA**

Susanna Back
Maisterintutkielma
Helsingin yliopisto
Maataloustieteiden laitos
Kotieläintiede
2016

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta		Laitos — Institution — Department Maataloustieteiden laitos	
Tekijä — Författare — Author Susanna Back			
Työn nimi — Arbetets titel — Title Osteokondroosin perinnöllinen vaihtelu suomenhevosilla			
Oppiaine — Läroämne — Subject kotieläintiede			
Työn laji — Arbetets art — Level Maisterintutkielma	Aika — Datum — Month and year Joulukuu 2016	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 52 s.	
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>Tutkimuksen tarkoituksena oli kartoittaa osteokondroosin esiintyvyys ja perinnöllinen vaihtelu suomenhevospopulaatiossa. Osteokondroosi on luutumisen kehityshäiriö, jonka seurauksena nivelissä voi esiintyä irrallisia luu- tai rustokappaleita. Sairaus on yleinen erityisesti nuorilla lämminverihevosilla. Suomenhevosten kasvuhäiriötutkimuksessa röntgenkuvattiin 654 nuorta hevosta vuosina 2014 – 2015 (Ryhmä 1). Näiden ohella käytettävissä oli nivelten röntgenkuvatiedot kaikkiaan 1829 hevosesta sisältäen mm. kaikki vuodesta 1987 lähtien jalostukseen tarjotut oriit.</p> <p>Osteokondroosimuutosten harvinaisuuden, tutkittujen hevosten alhaisen lukumäärän ja epätasaisen perherakenteen takia aineiston geneettinen analysointi oli hankalaa. Analysointi suoritettiin lineaarisella isämallilla 1/0 -asteikolla ja tulokset varmennettiin käyttäen eläinmallia ja kynnyksominaisuustarkastelua muutosten alttiuden vaihtelulle. Tilastollinen analyysi tehtiin R-ohjelman MCMCglmm-ohjelmalla, joka antaa varianssikomponenttien estimaatin posteriori-jakauman ja uskottavuusalueen. Heritabiliteetit (h^2) analysoitiin nivelkohtaisesti.</p> <p>Ryhmässä 1 osteokondroosia oli 16,9 %:lla hevosista. Eniten muutoksia esiintyi kinnernivelessä (5,2 %), jossa h^2:n arvion keskiarvo oli isämallilla 0,18 (uskottavuusalue 0,03 - 0,35). Ryhmän 1 isämallilla saadut h^2 -estimaatit olivat etujalkojen kavionivelillä 0,31 (0,12 - 0,55), takapolvilla 0,31 (0,09 - 0,54) ja etujaloissa sääriluusta lähtöisin olevilla vuohtaisen etupinnan muutoksilla 0,22 (0,07 - 0,40).</p> <p>Osteokondroosimuutosten esiintyvyys on suomenhevosilla oletettua yleisempää. Sairauden vastustamisessa olennaisinta on keskittyä muutosten ehkäisemiseen nivelissä, joissa esiintymisfrekvenssi ja h^2 ovat korkeita. Sairauden perinnöllisen vaihtelun vuoksi suunnittelematon siitosorien käyttö johtaa muutosten yleistymiseen. Havaittu geneettinen vaihtelu mahdollistaa kuitenkin jalostusvalinnan käytön osteokondroosin systemaattiseen vähentämiseen.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Suomenhevonen, osteokondroosi, esiintyvyys, perinnöllisyys			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Maataloustieteiden laitos ja Viikin kampuskirjasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Työn ohjaaja Asko Mäki-Tanila			

HELSINGIN YLIOPISTO — HELSINGFORS UNIVERSITET — UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Faculty of Agriculture and Forestry		Laitos — Institution — Department Department of Agricultural Sciences	
Tekijä — Författare — Author Susanna Back			
Työn nimi — Arbetets titel — Title Prevalence and heritability of osteochondrosis in the Finnhorse population.			
Oppiaine — Läroämne — Subject Animal science			
Työn laji — Arbetets art — Level Master's thesis		Aika — Datum — Month and year December 2016	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 52 p.
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>The purpose of this study was to estimate prevalence and genetic parameters of osteochondrosis in the Finnhorse population. Osteochondrosis is characterized by a failure of normal endochondral ossification. This developmental orthopedic disease is widely recognized in young warmblood horses across many breeds. The data consisted of 654 young Finnhorses (Group 1), presented for radiographic examination in the years 2014 – 2015. The total data (n=1829) included also most of the recently used breeding stallions with a high number of progeny.</p> <p>Because of the low frequency of the disease, a low number of analysed horses and challenging pedigree structure with highly variable family size, there were problems in genetic analyses. Heritabilities (h^2) were estimated using linear sire model for categorical data and the results were augmented by using non-linear animal model on the liability scale. Statistical analysis was made by R program MCMCglmm which gives posterior distribution (incl. 95 % credibility area). The heritabilities were analysed by joint –specific analyses.</p> <p>The presence of at least one osteochondral lesion was documented for 16,9 % of the studied horses. The lesions were most common in hock (5,2 %) where h^2 with linear sire model was 0,18 (95 % credibility area 0,03-0,35). By using linear sire model in Group 1 h^2 estimates were in hoof joint of front legs 0,31 (0,12 - 0,55), stifle joint 0,31 (0,09 - 0,54) and dorsodistal osteochondral fragments in fetlock which are originating from metacarpal bone 0,22 (0,07 - 0,40).</p> <p>The prevalence of osteochondrosis is more common in Finnhorse population than has been expected. In future we should focus on the affected joints with the highest frequency and heritability rather than the entire disease complex. The observed genetic variation allows the use of breeding selection for the systematic reduction of osteochondrosis in the Finnhorse population.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Finnhorse, osteochondrosis, prevalence, heritability			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Department of Agricultural Sciences and Viikki Campus Library			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Supervisor Asko Mäki-Tanila			

SISÄLLYS

1 JOHDANTO	6
2 SUOMENHEVOSEN ROTUOMINAISUUDET	7
2.1 Jalostusohjesääntö.....	8
3 OSTEOKONDROOSI	8
3.1 Esiintyvyys.....	11
3.2 Altistavat tekijät.....	12
3.3 Perinnöllinen vaihtelu	13
3.3.1 Korrelaatiot	14
3.4 Vaikuttavien geenien kartoitus perimästä.....	15
3.5 Kansainväliset jalostusohjelmat ja osteokondroosi	16
3.6 Tulevaisuuden näkymiä	17
4 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET	18
5 AINEISTO	18
5.1 Sukupuoli	20
5.2 Syntymävuosi	20
5.3 Isäryhmät	21
6 TOTEUTUS	21
6.1 Aineiston käsittely.....	22
6.1.1 Turvotustiedot	24
7 TULOKSET	24
7.1 Frekvenssit	24
7.1.1 Kokonaisfrekvenssi	24
7.1.2 Muutoksia useammassa nivelessä	25
7.1.3 Nivelkohtaiset frekvenssit	25
7.2 Fenotyypiset korrelaatiot.....	27
7.3 Tilastollinen malli	27
7.3.1 Kiinteät tekijät	28
7.3.2 Geneettisen vaihtelun analysointi	31
7.3.3 Esimerkki MCMCglmm-ohjelman käytöstä	33
7.4 Periytymisaste	36
7.4.1 Isämalli.....	36
Ryhmä 1	36
Yhdistetty aineisto.....	39
7.4.2 Eläinmalli	40
7.4.3 Mallien vertailu	42
7.4.4 Riski sairastua	42
8 TULOSTEN TARKASTELU	44
8.1 Aineisto	44
8.2 Menetelmät.....	46
8.3 Tulokset.....	47
9 JOHTOPÄÄTÖKSET	50
10 KIITOKSET	51
LÄHTEET	52

1 JOHDANTO

Suomalainen hevostalous on samaan aikaan sekä vahvassa kasvussa että suurten muutosten edessä. Viimeisten vuosien aikana niin hevosten kuin alan harrastajienkin määrä on kasvanut, ja täten hevosalan työllisyysvaikutus on merkittävä. Maatalouden muuttuessa hevosiin liittyvä toiminta luo uusia mahdollisuuksia maaseudulle ja maataloudelle. Hevostalous on sekä vahva itsenäinen toimiala että tärkeä maatalouden sivuelinkeino, johon liittyy paljon mahdollisuuksia. Suomenhevosen rooli tässä hevosurheilun ja maaseudun kehityksessä on merkittävä.

Maanlaajuinen taloudellinen tilanne asettaa haasteita myös hevostaloudelle. On entistäkin tärkeämpää kehittää kotimaista hevosjalostusta terveydellisten, eettisten ja taloudellisten tavoitteiden mukaisesti. Tänä päivänä suomenhevosia on Suomen hevuskannasta noin kolmannes eli noin 20 000 yksilöä (Suomen Hippos 2015).

Osteokondroosi on kasvuikäisen luu-rustokudoksen kehityshäiriö, jonka seurauksena nivelissä voi esiintyä irrallisia luu- tai rustokappaleita. Tällaiset osteokondroosin aiheuttamat luustonkehityshäiriöt ovat yleinen ongelma nuorilla hevosilla. Osteokondroosin aiheuttamat kasvuhäiriöt ovat monen tekijän seurausta. Näiden muutosten syntyyn vaikuttaa hevosen kasvunopeuden ja perinnöllisten tekijöiden ohella esimerkiksi ruokinta sekä tamman tiineyden että varsan kasvun aikana. Sairaus vaikuttaa kaikenikäisten hevosten käyttööminaisuuksiin ja suorituskykyyn. Varsojen röntgenkuvaus kasvuhäiriöiden varalta ja mahdollisten muutosten kirurginen poisto on tavanomaista jo monille urheiluhevosten kasvattajille.

Osteokondroosia esiintyy laajasti täysiverisillä ja lämminverisillä roduilla, mutta se on harvinaisempi poneilla ja kylmäverisillä. Sairauden esiintymisen kartoittamista varten vuosina 2014 – 2015 toteutettu Suomenhevosten kasvuhäiriöprojekti on ensimmäinen suomenhevosten osteokondroosia tarkastellut tutkimus, vaikkakin Virpi Pulkkinen sivusi aihetta omassa pro gradu -työssään vuonna 1993. Tällöin suomenhevosilla sairauden frekvenssi oli 1,27 %. Erityisen matalasta frekvenssistä johtuen on vaikea erottaa sattuman ja perintötekijöiden vaikutusta, ja sen vuoksi periytyvyysastetta ei tällöin pystytty arvioimaan ollenkaan. Sairastuneiden osuuden populaatiosta epäillään kuitenkin kasvavan jatkuvasti.

Kasvuhäiriötutkimuksen tarkoituksena oli kartoittaa osteokondroosin esiintyvyyttä ja sekä periytyvyyttä suomenhevospopulaatiossa. Tutkimuksen alustavat tulokset vaikuttivat vuonna 2016 tehtyyn suomenhevosten jalostusohjesäännön uudistukseen. Samana vuonna voimaan tulleen jalostusohjesäännön mukaan osteokondroosimuutoksia omaava ori voidaan hyväksyä jalostusarvostelussa vain poikkeuksellisen hyvän kilpailumenestyksen perusteella. Tämä poikkeuksellisen hyvä menestys on määritelty tarkoittamaan I-palkinnolla palkittavia oreja.

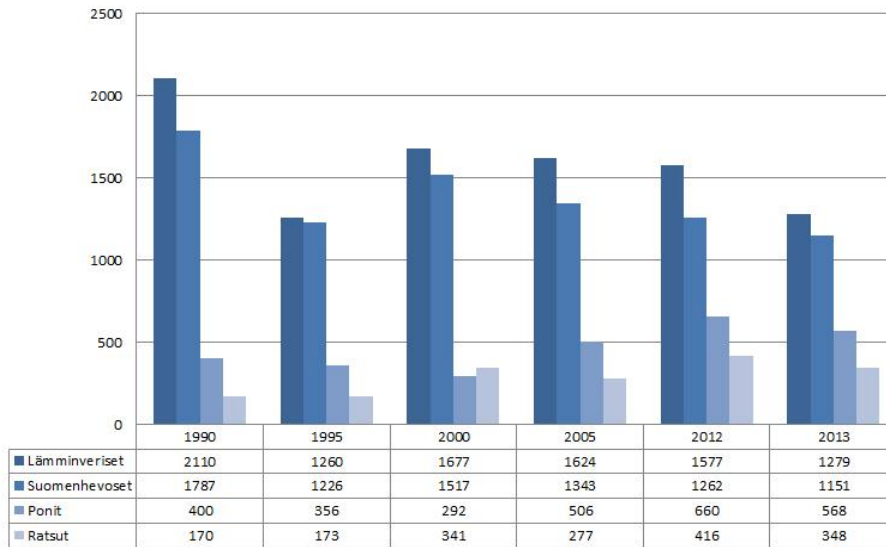
Tämä opinnäytetyö paneutuu suomenhevosen osteokondroosin esiintymisen kartoitukseen ja sairauden esiintymisessä ja sen alttiudessa näkyvän vaihtelun perinnöllisen osan analyysiin. Kirjallisessa osassa käsitelen osteokondroosin ilmenemiseen vaikuttavia tekijöitä, sekä hoitoa ja vaikutuksia hevosen uraan. Esittelen myös kotimaisen suomenhevosen monipuolisia rotuominaisuuksia ja uudistettua jalostusohjesääntöä lyhyesti.

2 SUOMENHEVOSEN ROTUOMINAISUUDET

Suomenhevonen on monikäyttöinen kotimainen yleisrotu, jota on jalostettu puhtaana rotuna vuodesta 1907 lähtien. Kokonsa, rakenteensa ja luonteensa puolesta suomenhevonen on hyvin monikäyttöinen yleishevonen (Suomenhevosliitto 2016). Suomenhevosten määrä koko Suomen hevospopulaatiosta on noin kolmannes, eli noin 20 000 yksilöä. Rodun kannalta huolestuttavaa on kuitenkin astutettavien tammojen ja syntyvien varsojen määrän tasainen lasku (Kuva 1). Vuonna 2014 suomenhevosvarsoja syntyi vain 1003 kappaletta (Suomen Hippos 2015).

Aiemman ulkomuotojalostuksen ja pelkkään työkäyttöön suunnatun valinnan jälkeen suomenhevosten jalostusvalinta on 1920-luvulta lähtien siirtynyt suorituskyvyn perusteella tapahtuvaan valintaan. Tällöin ravikilpailutoiminta oli jo lähtenyt liikkeelle ja ensimmäiset kuninkuusravit järjestettiin vuonna 1924. Vuodesta 1971 lähtien suomenhevosia on kantakirjattu neljälle eri suunnalle: juoksija, ratsu, työ- ja pienhevonen. Jokaiselle suunnalle on määritelty omat jalostustavoitteensa. Suomenhevosia hyödynnetään niin harraste- kuin urheilurotuna ja myös esimerkiksi

matkailu- ja hyvinvointipalveluissa. Raviurheilu on kuitenkin suomenhevosten merkittävin käyttömuoto (Suomen Hippos 2016).



Kuva 1. Suomessa syntyneiden varsojen lukumäärät syntymävuoden mukaan. Suomen Hippos ry. http://www.hippos.fi/rekisterointi_ja_omistaminen/tilastot/syntyneet_varsat

2.1 Jalostusohjesääntö

Vuoden 2015 loppuun asti voimassa olleen jalostusohjesäännön mukaisesti suomenhevosori, jolla on todettu osteokondroosi tai muita kasvuhäiriöitä nivelissä voitiin hyväksyä kantakirjaan vain, jos sen kilpailusuoritukset olivat poikkeuksellisen hyvät. Nivelmuutokset ilmoitettiin selkeästi kantakirjalausunnossa ja laskivat pisteytystä sekä palkintoa (Suomen Hippos ry, jalostusohjesääntö 2011).

Suomenhevosten jalostusohjesääntö muuttui terveysominaisuuksien osalta vuonna 2016 siten, että lause ”poikkeuksellisen hyvät kilpailusuoritukset” tarkennettiin koskemaan oreja, joiden suoritukset riittävät I-palkinnolla palkitsemiseen. Nämä suoritukset on tarkemmin määritelty suomenhevosten päivitetyn jalostusohjesäännön Jalostusarvostelu ja palkitseminen -liitteessä (Suomen Hippos ry, jalostusohjesääntö 2015).

3 OSTEOKONDROOSI

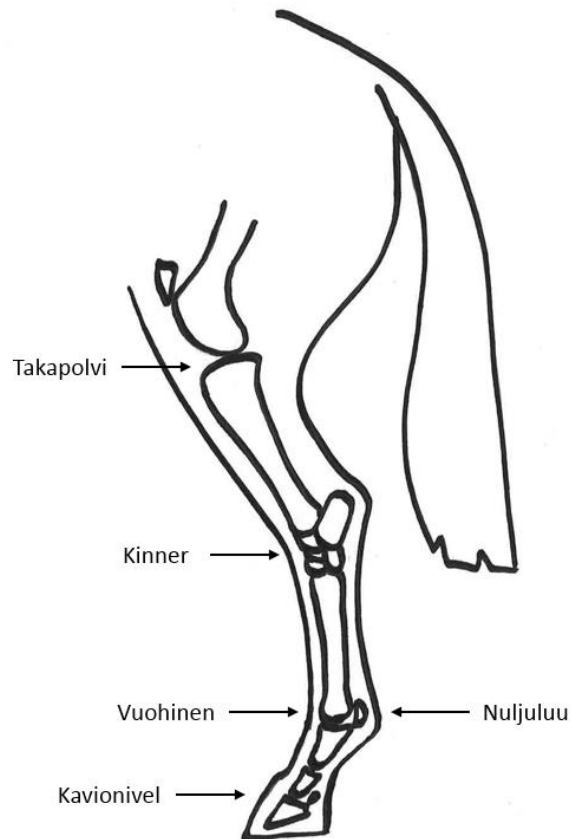
Normaali rustonsisäinen luutuminen etenee vaiheittain niin, että rusto kehittyy, kypsyy ja lopulta kalkkiutuu. Solut lisääntyvät kasvurustojen yläpinnalla mahdollistaen samalla

alapinnan solujen jatkokehittymisen ja kalkkiutumisen. Häiriöttömän prosessin lopputuloksena muodostuu tiivis luukudos ja ohut rusto (Ytrehus ym. 2007).

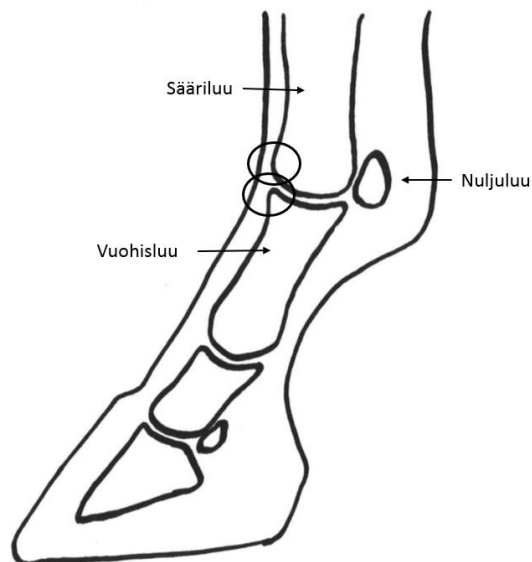
Juveniili osteokondraalinen sairaus (JOCC) on yhteisnimitys kaikille kasvuruston ja nivelen muutoksille ja näiden biomekaaniselle taustalle. Tilan yleisin esiintymismuoto on osteokondroosi, jossa muutoksen aiheuttava biomekaaninen ärsyke vaikuttaa häiritsevästi normaaliin rustonsisäiseen luutumiseen. Tällöin luutuvan ruston verisuonituksessa tapahtuu muutoksia (Denoix ym. 2013). Muutosten seurauksena rusto tiivistyy ja paksuntuu. Nämä muutokset voivat kehittyessään johtaa esimerkiksi kystan tai osteokondraalisen kappaleen eli ns. irtopalan kehittymiseen nivelen sisälle. Näiden muutosten on todettu vaikuttavan heikentävästi hevosen kilpamenestykseen ja uran pituuteen (Distl 2013). Pitkälle edenneenä sairaus voi johtaa nivelrikkoon (Orr ym. 2013).

Merkittävä tekijä sairauden taustalla on verenkierron häiriytyminen ja sen seurauksena syntyvä iskemia ja ruston nekroosi. Varhaisia muutoksia on havaittu jopa kahden päivän ikäisillä varsoilla ja osassa tutkimuksista kintereen muutoksia on esiintynyt huomattavan paljon kuukauden ikäisillä varsoilla. Muutosten muodostumisajankohdan on havaittu olevan nivelkohtaista (van Weeren ja Jeffcott 2013). Nämä varhaiset muutokset parantuvat usein pääasiassa itsestään, sillä muutosten aikaisessa vaiheessa ruston oma korjausprosessi häivyttää vauriot kokonaisuudessaan (Olstad ym. 2015). Tästä syystä osteokondroosin aiheuttamat pysyvät muutokset ovat havaittavissa noin vuoden ikäisillä hevosilla (Denoix ym. 2013).

Osteokondroosimuutoksia esiintyy sekä etu- että takajaloissa. Näitä muutoksia esiintyy yleisimmin vuohis-, kinner- ja takapolvinivelissä (Kuva 2). Vuohisnivelissä muutoksia esiintyy sekä vuohisen etupinnalla että takapinnalla nujuluiden alla. Vuohisten etupinnan muutokset voivat olla lähtöisin joko sääri- tai vuohisluusta (Kuva 3). Vaurioita voi esiintyä myös nivelrustossa ja sen alaisessa luussa. Muutoksia omaavilla hevosilla on suuri riski sairastua myös muihin ortopedisiin oireisiin myöhemmällä iällä (Distl 2013). Eräissä tutkimuksissa jopa yli 50 prosentilla sairastuneista eri nivelten muutokset olivat molemminpuolisia. Tällöin muutoksia esiintyi esimerkiksi molemmissa takajaloissa. (Olstad ym. 2015).



Kuva 2. Hevosen takajalan rakenne. Kuvassa osoitettuna nivelet, joissa osteokondroosimuutoksia esiintyy yleisimmin.



Kuva 3. Hevosen etujalan alanivelet. Kuvassa eritelty vuohisen etupinnan muutos sen perusteella, onko muutos lähtöisin vuohis- vai sääriluusta. Birkeland-irtopalat sijaitsevat nuljuluun alla vuohisen takapinnalla.

Osteokondroosin yleisin hoitomuoto on kirurginen operaatio. Muodostunut irtokappale poistetaan tähystysleikkauksella. Lievissä osteokondroosimuutoksissa, joissa ei ilmene varsinaista irtopalaa, konservatiivinen hoito ilman kirurgista operaatiota on mahdollista. Lopulta hoitomuodon valintaan vaikuttavat niin palan koko, kliiniset oireet kuin toimenpiteiden ja hoitamattomien muutosten arvioidut kustannukset (van Weeren ja Jeffcott 2013).

Jatkuva kiinnostus aiheeseen todistaa sairauden olevan edelleen yksi merkittävimmistä kliinisistä ongelmista urheiluhevosten maailmassa. Aiheesta on lukuisia ulkomaisia tutkimuksia, joissa on osittain myös ristiriitaisia tuloksia. Selvää on ainoastaan se, että sairauden taustalla on monisyinen tekijöiden joukko (van Weeren ja Jeffcott 2013).

3.1 Esiintyvyys

Osteokondroosia esiintyy useilla eri hevosroduilla. Poneilla ja kylmäverisillä hevosilla sairaus on lämminverisiä ratsuja ja ravureita sekä täysiverisiä hevosia harvinaisempaa. Nuorten hevosten röntgenkuvaus on tavallista sairauden yleisyyden vuoksi (Distl 2013). Sairautta esiintyy myös muilla lajeilla, kuten sioilla, koirilla, naudoilla, kissoilla ja rotilla (Lewczuk ja Korwin-Kossakowska 2012).

Arviot ja tutkimustulokset sairauden esiintyvyydestä vaihtelevat tutkimuksittain ja roduittain, mutta yleensä prevalenssi lämminverisillä roduilla on 25 - 30 %. Korkeimmillaan esiintyvyys on tanskalaisilla lämminverisillä jopa 67 % (van Weeren ja Jeffcott 2013). Ainoa kylmäveriroduilla tehty osteokondroositutkimus on vuodelta 2006. Tällöin tutkituista 167 Pohjois-Saksan kylmäverihevosesta 61,7 %:lla oli havaittavissa osteokondroosimuutoksia, näistä 26,9 %:lla muutos näkyi röntgenkuvassa irtopalana (Wittwer ym. 2006)

Osteokondroosimuutosten esiintyvyys vaihtelee myös nivelittäin. Lämminverisillä ravihevosilla kintereen muutosten frekvenssi on noin 20 %, tosin ruotsalaisilla lämminverisillä ravureilla tehdyssä tutkimuksessa frekvenssi oli kuusi prosenttia. Täysiverisillä kintereen osteokondroosimuutosten esiintyvyys on ollut noin seitsemän prosenttia ja tanskalaisilla lämminverisillä ratsuilla jopa yli 30 %. Ruotsalaisilla

lämminverisillä ravureilla suoritetussa tutkimuksessa Birkeland-irtopalojen frekvenssi oli noin 10 % (Lykkjen ym. 2014).

Virpi Pulkkinen tutki osteokondroosin esiintyvyyttä Helsingin yliopiston kotieläinten jalostustieteen pro gradu -työssään vuonna 1993. Tutkimusajankohtana sairauden frekvenssi oli suomenhevosilla 1,27 %. Erityisen matalasta frekvenssistä johtuen periytyvyysastetta ei tällöin pystytty laskemaan.

3.2 Altistavat tekijät

Osteokondroosin kehittyminen (etiologia) on edelleen osittain selvittämättä (Distl 2013). Perintö- ja muista tekijöistä johtuvan monisyisen sairauden ilmentymisen taustalla on niin ruokinnan epätasapaino sikiön kehittyessä tamman tiineysaikana tai varsan kasvaessa, varsan voimakas kasvu, rakenneominaisuudet, biomekaaniset tekijät tai muunlaiset häiriöt ruston kehityksessä (Robert ym. 2013). Eräiden osteokondroosimuutosten, kuten Birkeland -irtopalojen eli nujuluun alaisten luunsirujen (Kuva 2), taustalla voi olla myös traumaperäinen tekijä (Hilla ja Distl 2014).

Ruokinnan merkitys sairauden ilmentymisessä on todettu monessa tutkimuksessa. On esitetty yksittäisten tekijöiden, kuten kuparin puutteen, liiallisen hiilihydraattien saannin tai liian fosforipitoisen ruokinnan nostavan varsan alttiutta osteokondroosille (Robert ym. 2013). Uusimpien tutkimusten perusteella kuparilla ei ole kuitenkaan niin merkittävää vaikutusta kuin aikaisemmin oletettiin. Kuparin on todettu olevan vain yksi esiintymiseen vaikuttavista ympäristötekijöistä (van Weeren ja Jeffcott 2013). Sama tulos on havaittu myös muiden ruokintatekijöiden vaikutusta kartoittaneissa tutkimuksissa (Robert ym. 2013).

Eräissä tutkimuksissa nopean kasvun on todettu olevan korreloitunut osteokondroosin ilmentymisen kanssa. Oriilla ja ruunilla on todettu olevan korkeampi riski sairastua hormonaalisten erojen tai sukupuolesta johtuvan suuremman koon vuoksi. On kuitenkin myös tutkimuksia, joissa sukupuolella ja koolla tai kasvuvauhdilla ei ole todettu olevan merkitystä sairauden ilmentymiseen (Robert ym. 2013).

3.3 Perinnöllinen vaihtelu

Osteokondroosin periytyvyyttä on tutkittu paljon 2010-luvulla. Ruokinnan ja liikunnan merkityksen mahdollista vähäisyyttä ja perimän merkityksen korostumista vahvistaa tieto siitä, että osteokondroosia esiintyy myös luonnonoloissa villihevosilla (van Weeren ja Jeffcott 2013).

Periytymisaste (heritabiliteetti) on populaatiokohtainen parametri, joka riippuu fenotyypin mittausten menetelmästä, ja heritabiliteetin arvion (estimaatin) luotettavuus (keskivirheen suuruus) otoskoosta ja tutkittavan populaation perherakenteesta (Distl 2013). Eri tutkimusten välistä vertailua hankaloittavat lisäksi nivelmuutosten analysoinnissa käytetyt muuttujat ja niiden asteikot. Terve-sairas eli joko-tai -asteikkoa monipuolisempi tautiasteen intervalliasteikko antaa parempia tuloksia ominaisuuksilla, joiden heritabiliteetti on matala. Esimerkiksi Tanskassa tutkimuksissa käytetty viisiluokkainen asteikko on hyvin verrattavissa Saksan neliluokkaiseen asteikkoon. Huomioitavaa on lisäksi, että taudin alttiuden (kynnysarvon) vaihtelua kuvaavaa epälineaarista mallia käyttämällä heritabiliteetin arviot ovat isompia kuin käyttämällä taudin nähtävillä olevalla terve-sairas- eli 1/0-asteikolla lineaarista mallia (Lewczuk ja Korwin-Kossakowska 2012). Lisäksi eläinmallilla saadaan vaihtelua tehokkaammin esille kuin isämallilla, jossa hyödynnetään puolisisaruksia ottamatta huomioon emiä, kun taas eläinmallissa otetaan huomioon kaikki sukulaisuustiedot ja saatavilla olevat sukulaisten fenotyypit (Distl 2013). Joko-tai ominaisuuden analyysin tulos on joissakin tapauksissa muutettu heritabiliteettiarvioiden esittämisessä alttius-asteikon mukaiseksi (Robertson ja Lerner 1949).

Sairauden heritabiliteetti vaihtelee eri roduilla. Sairauden vaihtelun geneettisen osuuden arvioinnissa on otettava huomioon myös ympäristötekijöiden (liikunta, ruokinta) osuus, sekä näiden mahdollinen epigeneettinen rooli. Merkittävää kuitenkin on, että heritabiliteettiarvoissa on sekä nivel- että rotukohtaista vaihtelua (van Weeren ja Jeffcott 2013).

Laajassa saksalaisessa tutkimuksessa analysoitiin 7396 hannoverinhevosen osteokondroosin heritabiliteettejä ja korrelaatioita eri nivelten välillä joko-tai -asteikolla ja muuttamalla Robertson ja Lerner (1949) -menetelmällä saadut heritabiliteettiestimaatit alttius-asteikon mukaisiksi. Kintereen irtopalojen osalta

alttiusasteikon heritabiliteetti oli 0,46, takapolven osalta 0,23 ja vuohisen osalta 0,16 – 0,23. Vuohisen paloista korkein heritabiliteetti oli etupinnan paloilla, joskin näissä muutoksissa ei eritelty, olivatko ne peräisin vuohis- vai sääriluusta. Birkelandien osalta heritabiliteetti oli korkeampi takajalkojen kuin etujalkojen muutoksissa. Sama tulos näkyi myös etupinnan paloissa (Hilla ja Distl 2014).

Lämminverisillä ravihevosilla heritabiliteetiksi on eri tutkimuksissa saatu vuohisen osalta sairausasteikolla 0,06 – 0,07 ja alttiusasteikolla 0,13 – 0,32; kintereen muutoksille sairausasteikolla 0,07 – 0,10 (useampiluokkaisella asteikolla 0,26 – 0,45) ja alttiusasteikolla 0,14 – 0,37; takapolven muutoksille useampiluokkaisella sairausasteikolla 0,02 – 0,05 ja alttiusasteikolla 0,09. Lisäksi erot johtuvat käytetystä tilastollisesta mallista (isämalli vs. eläinmalli), hevosten rodusta, perherakenteesta, tarkastelluista nivelistä ja eläinmäärästä (Distl 2013).

Pohjoismaisilla lämminveriravureilla tehdyssä tutkimuksessa käytettiin isämallia alttiusasteikolle ja analyysissa kintereen osteokondroosimuutosten heritabiliteetti oli jopa 0,52 ja birkelandien 0,21. Ruotsalaisilla lämminverisillä ratsuilla kintereen heritabiliteetti oli 0,32 ja birkelandien 0,38, kun taas tanskalaisilla lämminveriratsuilla kintereen muutosten heritabiliteetti oli 0,25 – 0,36 (Lykkjen ym. 2014).

Alhaisin heritabiliteetti on havaittu vuohisen muutoksilla (Hilla ja Distl 2014). Useiden tutkimusten perusteella vuohisen osteokondroosimuutosten heritabiliteetti on alhainen ja tämän vuoksi useissa maissa ei tehdä osteokondroosin vastaista valintaa vuohisen osalta (Lewczuk ja Korwin-Kossakowska 2012).

Eri tutkimuksissa saadut heritabiliteetin arviot vaihtelevat siis suuresti. Ero on kuitenkin isompi eri nivelten kuin eri rotujen välillä. Tästä huolimatta tutkimuksille yhteistä on tulos siitä, että kintereen muutosten heritabiliteetti on korkeampi kuin muiden nivelten (Lewczuk ja Korwin-Kossakowska 2012).

3.3.1 Korrelaatiot

Havaitut geneettiset korrelaatiot vaihtelevat tutkimuksittain ja roduittain. Lämminverisillä ravihevosilla kintereen- ja Birkeland-muutosten välinen geneettinen

korrelaatio alttiusasteikolla oli 0,58 ja ruotsalaisilla lämminveriratsuilla -0,26. Tuloksissa on kuitenkin korkea keskivirhe (Lykkjen ym. 2014). Saksalaisessa tutkimuksessa havaittiin puolestaan positiivinen geneettinen korrelaatio takapolven ja vuohisen, takapolven ja kintereen sekä takapolven ja vuohisen etupinnan muutosten välillä. Birkeland-muutokset olivat puolestaan negatiivisesti korreloituneita muiden nivelien muutosten kanssa (Hilla ja Distl 2014).

Osteokondroosimuutosten korrelaatioita erilaisten suorituskykyominaisuuksien kanssa on myös tutkittu. Puoliveriratsuilla kasvuhäiriöiden ja kouluratsastusominaisuuksien väliseksi korrelaatioksi saatiin 0,06 – 0,41 ja kasvuhäiriöiden ja esteominaisuuksien väliseksi korrelaatioksi 0,04 – 0,53 (Lewczuk ja Korwin-Kossakowska 2012).

Eri tutkimuksista saatujen tulosten perusteella yhteneväistä on ajatus siitä, että eri nivelten tuloksia on tarkasteltava erikseen. Valinnalla suurin muutos saavutetaan nivelissä, joiden muutoksilla on korkein heritabiliteetti ja jotka ovat mahdollisesti korreloituneita muiden tarkasteltujen nivelien muutosten kanssa, pääasiassa siis kintereen ja takapolven valinnalla (Hilla ja Distl 2014).

3.4 Vaikuttavien geenien kartoitus perimästä

Osteokondroosin laaja esiintyminen, merkittävä taloudellinen vaikutus, matala heritabiliteetti ja heikko vaste käytettyihin valintamenetelmiin ovat muodostaneet tarpeen tehokkaampien molekyyli tutkimusten kehittämiseksi sairauden geneettisen taustan selvittämiseksi. Perimän merkityksen ymmärtämisen sairauden esiintymisessä oletetaan kasvavan geneettisten tutkimusmenetelmien kehittyessä (Lewczuk ja Korwin-Kossakowska 2012).

Uusimmat molekyyli genetiikan tulokset ovat vahvistaneet käsitystä sairauden kompleksisesta geneettisestä taustasta ja osoittaneet, että sairauden ilmenemiseen liittyy huomattava määrä genejä eri kromosomeista (Robert ym. 2013). Käytettyjä molekyyli genetiikan keinoja ovat esimerkiksi koko genomien sekvensointi, kandidaattigeenit ja SNP-merkkien, eli yhden emäksen muunteluiden, hyödyntäminen. Esimerkiksi kytkentäanalyytit ovat paljastaneet sairauden ilmentymiseen vaikuttavia genejä, mutta näiden vaikutus vaihteluun ei ole yksiselitteistä (Lewczuk ja Korwin-

Kossakowska 2012). Kandidaattigeenien vertailu ja uusien sekvensointitekniikoiden kehittyminen voivat kuitenkin auttaa ymmärtämään entistä paremmin sairauden monisyistä taustaa (Distl 2013). Tutkimuksissa on löydetty useita kromosomialueita, joilla on todettu olevan vaikutus osteokondroosin ilmenemiseen eri nivelissä. Löydetty lokukset ovat nivel- ja rotukohtaisia (van Weeren ja Jeffcott 2013).

Mikrosatelliitteja hyödyntämällä on paikannettu 14 suurivaikutteista geeniä (QTL). Näistä kahdeksan tärkeintä on jatkotutkittu lisämarkkereiden avulla. Koko genomin assosiaatiotutkimuksissa SNP-merkkien käyttö paljasti lisää QTL:iä. Vain muutamat näistä suurivaikutteisista geneeistä olivat yhteneväisiä eri roduilla. Huomioitavaa on, että mitä suuremman osan QTL selittää fenotyypisistä varianssista, sitä hyödyllisempi se on jalostusvalintaa ajatellen (Distl 2013). Myös lukuisia sairauteen vaikuttavia SNP-merkkejä on löydetty (Distl 2013). Tutkimuksissa on kuitenkin havaittu, että kaikki vahvasti assosioituneet SNP-merkit sijaitsevat eri kromosomeissa ja tutkimustulokset eroavat toisistaan (Distl 2013).

Sairauden karsimisen kannalta on tärkeää löytää ne kandidaattigeenit, jotka ovat yhteydessä osteokondroosiin. Tällaisia potentiaalisia kandidaattigeenejä on löydetty kromosomeista 2, 4, 16, 18, 28 ja 30 (Lewczuk ja Korwin-Kossakowska 2012). Kytöntäanalyysissä on kuitenkin havaittu assosioituneita SNP-merkkejä jopa 22 kromosomissa (van Weeren ja Jeffcott 2013). Osteokondroosiin liitettyjä QTL:iä on paikannettu lisäksi hevosen kromosomeista 3, 5, 7, 8, 9, 13, 14, 15, 19, 21, 22 ja 24 (Lewczuk ja Korwin-Kossakowska 2012).

3.5 Kansainväliset jalostusohjelmat ja osteokondroosi

Koska saatujen heritabiliteetti-arvioiden perusteella on jalostusarvostelua käyttämällä arvioitu merkittävää osteokondroosin vähenemistä, useat maat, kuten Saksa ja Hollanti, ovat sisällyttäneet sairauden osaksi tiettyjen hevosrotujen jalostusohjelmia (Lewczuk ja Korwin-Kossakowska 2012). Sairastuneiden määrä kuitenkin kasvaa jatkuvasti, joten vaikuttaa siltä, etteivät nykyiset käytössä olevat mittausmenetelmät ja valinnan intensiteetti ole tuottaneet tyydyttävää tulosta. Useissa maissa on käytössä jalostusoriiden röntgenkuvaus, mutta parhaan tuloksen saavuttamiseksi myös tammattulisi kuvata (Distl 2013). Alhaisen heritabiliteetin lisäksi valintaa osteokondroosia

vastaan hankaloittavat hevosihmisten otaksumat ominaisuuden epäsuotuisasta korreloitumisesta muiden suorituskykyominaisuuksien kanssa.

Käytännön toimet osteokondroosia vastaan ovat pääosin yhteneväiset useimmissa Euroopan maiden jalostusohjelmissa, vaikkakin toimintamalli ja arvosteluasteikko vaihtelevat maittain. Useimmat maat vaativat siitosorien röntgenkuvauksen. Sairastuneiden orien karsiminen jalostuksesta ei kuitenkaan aina ole tuonut toivottavaa laskua sairauden esiintymisissä. Useissa maissa kiinnitetäänkin lisäksi lisääntyvissä määrin huomioita tammojen valintaan. Esimerkiksi Hollannissa puoliveristen kantakirjausta on helpotettu kasvuhäiriöiden osalta sallimalla pieniä osteokondroosimuutoksia omaavien orien käyttö jalostuksessa ja tarjoamalla tammojen omistajille suuremman päätäntävällän valinnassa (Lewczuk ja Korwin-Kossakowska 2012 ja van Weeren ja Jeffcott 2013). Huomioitavaa on myös, että Ruotsi ja Norja eivät hyväksy lainkaan kylmäveriravurioreja jalostukseen, jos niiltä löytyy osteokondroosimuutoksia (Svensk Travsport 2014).

3.6 Tulevaisuuden näkymiä

Tulevaisuuden menetelmistä merkittävin hyöty osteokondroosin karsimisessa odotetaan saavutettavan genomisella valinnalla. Genominen valinta parantaa arvosteluvarmuutta nuorilla hevosilla ja tarjoaa keinon lyhentää sukupolvien välistä aikaa. Ennen tätä tarvitaan kuitenkin huomattava määrä genomista dataa oreista ja fenotyyppitietoja näiden jälkeläisistä (Distl 2013).

Ominaisuuksissa, joissa heritabiliteetti on 0,2 – 0,4 tarvitaan 2000 – 5000 yksilön fenotyyppi- ja genotyyppitiedot, jotta genomisen valinnan arvosteluvarmuus olisi 0,6. Alhaisemmilla heritabiliteettiluvuilla tutkittavien yksilöiden määrä tulee olla huomattavasti korkeampi. Tulevaisuudessa genomitietoa hyödynnettäessä ja diagnosoinnin kehittyessä määrät oletettavasti laskevat. Osteokondroosin genomisen valinta on tuloksellisinta nivelissä, joissa on korkea heritabiliteetti, esimerkiksi kintereessä (Distl 2013).

4 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET

Tutkimuksen tavoitteena on:

- 1) arvioida osteokondroosin esiintyvyys suomenhevospopulaatiossa,
- 2) liittää tutkittujen hevosen tietoihin yksilöiden sukutiedot ja arvioida saadun perherakenteen avulla eri nivelten muutosten geneettinen vaihtelu.

Geneettisen analyysin tarkoituksena on määrittellä ympäristöstä aiheutuvan vaihtelun osuus ja saada tarkempi arvio perintötekijöiden vaikutuksesta. Additiivisen geneettisen vaihtelun ja heritabiliteettiarvioiden avulla voidaan ennustaa valinnan vaikutus.

Tulosten perusteella saadaan lisäksi tietoa suomenhevosten jalostusohjesääntöä uudistavan eläinlääkärityöryhmän käyttöön. Tarkoituksena on tarkastella ja uudistaa vanhan jalostusohjesäännön terveysosio suomenhevosten kasvuhäiriöiden osalta.

5 AINEISTO

Tutkimusta varten käytettävissä oli nivelten röntgenkuvatiedot kaikkiaan 1829 hevosesta. Tutkimusaineisto koostui kolmesta erilaisesta ryhmästä suomenhevosia:

Ryhmä 1

Ensimmäinen aineisto koostuu kasvuhäiriöprojektin puitteissa erikseen osteokondroosin toteamista varten kuvatuista vuosina 2010 – 2014 syntyneistä suomenhevosista. Joulukuussa 2014 kuvattiin myös vuonna 2009 syntyneitä hevosia. Kuvaushetkellä hevosen oli oltava vähintään yhdeksän kuukauden ikäinen.

Tutkimusta varten perustettu Suomenhevosten kasvuhäiriö -projekti tarjosi hevosenomistajille mahdollisuuden kuvauttaa varsansa alennettuun hintaan erikseen ilmoitetuilla klinikoilla. Valintaa kuvattavien hevosten suhteen ei tehty. Näitä hevosia kuvattiin yhteensä 654 kappaletta.

Ryhmä 2

Toisessa aineistossa on kaikki kantakirjaukseen tarjotut suomenhevosoriit vuodesta 1987 lähtien aina kevääseen 2015 asti. Mukana on kaikkien neljän eri jalostussuunnan oreja, yhteensä 889 kappaletta.

Ryhmä 3

Kolmannen aineiston hevoset ovat vuosina 2008 – 2014 Tampereen hevosklinikalla kuvattuja suomenhevosia. Hevoset ovat käyneet klinikalla muun syyn kuin ontuman vuoksi. Näitä syitä ovat käytännössä rutiinomaiset kasvukuvaukset ja ostotarkastuksen yhteydessä suoritettut jalkojen röntgenkuvaukset. Kasvuhäiriöprojektiin osallistuneet eläinlääkärit kävivät kuvat läpi. Tässä ryhmässä hevosia oli 261 kappaletta.

Näistä kolmesta erillisestä ryhmästä luotiin yksi yhdistetty aineisto. Tähän aineistoon kuuluivat kaikki tutkitut hevoset pois lukien kuitenkin yksilöiden mahdollinen kaksinkertainen tulos. Duplikaattien esiintyminen on mahdollista tapauksissa, joissa hevonen esiintyy useammassa eri ryhmässä, eli on kuvattu useampaan eri kertaan ja eri tarkoitusta varten. Duplikaatteja esiintyi myös saman ryhmän sisällä, esimerkiksi sama ori on voitu röntgenkuvata jalostusarvostelua varten useampaan kertaan. Näiden hevosten kaksinkertainen tulos poistettiin ryhmäkohtaisesti ennen yhdistetyn aineiston luontia. Jos kuvausten tiedot poikkesivat toisistaan, analyysissä hevonen luokiteltiin sairaaksi.

Ryhmä 1, eli tutkimusta varten kuvatut nuoret suomenhevoset, oli edustavin aineisto, koska se sisälsi satunnaisesti poimitun ja edustavan läpileikkauksen populaation nykytilaan. Luotettavuuden lisäämiseksi analyysit suoritetaan lisäksi yhdistetylle aineistolle mahdollisimman suuren otoskoon saavuttamiseksi. Tulokset esitetään Ryhmän 1 ja yhdistetyn aineiston osalta.

Perinnöllisen vaihtelun analysoinnissa hyödynnettiin Suomen Hippos ry:n Heppajärjestelmää ja poimittiin hevosten rekisterinumeroiden avulla sukulaisuusdataa eri ryhmien hevosille.

5.1 Sukupuoli

Röntgenkuvattujen nuorten suomenhevosten osalta sukupuolijakauma oli odotetun kaltainen, joskin Ryhmässä 3 oreja ja ruunia oli hieman tammoja enemmän. Ryhmän 2 hevoset olivat kaikki luonnollisesti oreja (Taulukko 1).

Taulukko 1. Kasvuhäiriötutkimuksessa röntgenkuvattujen suomenhevosten sukupuolijakauma.

Sukupuoli	Ryhmä 1	Ryhmä 1	Ryhmä 3
tamma	331	0	103
ruuna	114	0	92
ori	209	889	66

5.2 Syntymävuosi

Ryhmän 1 hevoset olivat syntyneet pääasiassa vuosina 2010 - 2013, kun taas Ryhmän 2 siitosoriit vuosina 1980 – 2008 (Taulukko 2). Ryhmän 3 hevosten syntymävuodet olivat jakautuneet tasaisemmin eri vuosien välille.

Taulukko 2. Kasvuhäiriötutkimuksessa röntgenkuvattujen suomenhevosten jakautuminen syntymävuoden mukaan.

Syntymävuosi	Ryhmä 1	Ryhmä 2	Ryhmä 3
1976-1979	0	19	0
1980-1989	0	310	1
1990-1999	0	291	11
2000-2008	0	251	130
2009	20	7	36
2010	110	9	45
2011	149	2	20
2012	170	0	15
2013	160	0	3
2014	45	0	0

5.3 Isäryhmät

Helppo ja toisaalta hyvin luotettava tapa tutkia perinnöllisen vaihtelun osuutta on tarkastella orien jälkeläisryhmien vaihtelua. Jos ryhmien kesken on enemmän kuin sattumasta johtuvaa vaihtelua, se todennäköisesti johtuu orien geneettisistä eroista.

Sukupuuaineiston avulla muodostettiin isäorien jälkeläisryhmät. Ryhmässä 1 isäoreja oli kaikkiaan 214 kappaletta, joista 12 oriilla, eli kuudella prosentilla, oli jälkeläisiä 10 tai enemmän. Näistä 214 oriista neljällä oli jälkeläisiä enemmän kuin 20.

Yhdistetyssä aineistossa isäoreja oli yhteensä 467 kappaletta. Näistä oreista 29:llä, eli kuudella prosentilla, oli jälkeläisiä 10 tai enemmän. Yli 20 jälkeläistä oli 16 oriilla.

6 Toteutus

Ryhmän 1 hevosia kuvattiin 1.12.2014 – 30.4.2015 välisenä aikana hevosklinikoilla ympäri Suomea. Näitä klinikoita oli yhteensä 21. Klinikalla tutkittava hevonen tunnistettiin ja hevosenomistaja täytti esitietolomakkeen. Hevosesta otettiin rauhoituksessa kaikkiaan 10 kuvaa. Tutkimuksessa kuvattiin kaikki vuohisnivelet, kinnernivelet ja takapolvet. Käytännössä osallistuvilta hevosilta kuvattiin kaikista alanivelistä sivukuvat niin, että myös kehä- ja kavionivel näkyi. Lisäksi kuvattiin molemmat kintereet kahdesta suunnasta. Samalla eläinlääkäri tarkasti hevosen mahdolliset nivelturvotukset.

Jokainen tutkimukseen osallistunut klinikka hoiti kuvauksen ja kuvien lähetyksen valitsemallaan tavalla sekä vastasi hevosen mahdollisista jatkohoidoista yhdessä hevosenomistajan kanssa. Tutkimukseen ei sisällynyt ontumatutkimusta. Mahdollisesti tarvittavat lisätutkimukset tai hoitotoimenpiteet veloitettiin omistajalta klinikan käytännön mukaan.

Kuvien tulkinta tehtiin klinikan normaalikäytännön mukaisesti, ja tämän lisäksi kuvat lähetettiin tarkastettavaksi tutkimusta varten Suomen Hippokseen tutkimukseen osallistuneille kahdelle eläinlääkärille. Hevosen tietoja ei julkaistu nimellä, vaan tietoja käsiteltiin koko populaation tasolla. Osallistuessaan tutkimukseen hevosenomistaja

antoi suostumuksensa hevosen yksilöimättömien potilastietojen käyttämiseen tutkimustarkoituksissa.

Kaikkien kolmen aineistoryhmän tiedot tallennettiin opinnäytetyön osana paperiversioista sähköiseen muotoon kolmea samankaltaista Excel-pohjaa käyttäen. Kaikista tutkituista hevosista tallennettiin nimi, rekisterinumero, sukupuoli, kuvausvuosi sekä nivelkohtaiset tiedot. Ensimmäisen ja kolmannen ryhmän osalta tallennettiin myös kuvanneen klinikan nimi. Toisen ryhmän osalta kuvannut klinikka ei ollut tiedossa. Lisäksi ensimmäisen ryhmän hevosille tallennettiin myös mahdollinen nivelturvotustieto.

Nivelkohtaiset tiedot huomioitiin vuohisen etu- ja takapinnan osteokondroosimuutosten, katio- ja kehänivelten sekä kintereiden ja takapolvien osalta. Ryhmässä 1 etupinnan muutokset jaoteltiin lisäksi sen perusteella, oliko muutos peräisin sääri- vai vuohisluusta. Tässä perusteena oli se, että joidenkin tutkimusten mukaan sääri- luusta peräisin olevilla muutoksilla olisi korkeampi heritabiliteetti kuin vuohisluun vastaavilla.

Nivelkohtaiset terveystiedot tallennettiin kategorisena terve/sairas-ominaisuutena (0/1), eli muutoksen astetta ei kirjattu. Kaikista ryhmistä laskettiin frekvenssit. Aineiston tilastollinen ja geneettinen analysointi suoritettiin R-ohjelmistolla (<https://www.rstudio.com/>).

6.1 Aineiston käsittely

Kerätty terveysdata yhdistettiin Suomen Hippoksesta saatuun sukupuuaineistoon, josta R-ohjelman kinship-paketin sisältämällä prunePed-ohjelmalla poimittiin kuvattujen hevosten sukupuutiedot. Sukupuutiedot sisälsivät vain hevoset, jotka olivat vanhempina, isovanhempina, esivanhempina jne. tutkituille yksilöille. Sukulaisuustiedot otettiin sekä isä- että eläinmallianalyysiin Ryhmässä 1 vuodesta 1960 eteenpäin. Yhdistetyn aineiston isämallissa sukulaisuustiedot ovat vuodesta 1950 lähtien, koska aineiston vanhimmat hevoset ovat syntyneet huomattavasti aiemmin kuin Ryhmässä 1 (Taulukko 2). Näin saadaan yhtä kattava sukulaisuusaineisto, kun isämallissa vielä mennään automaattisesti yksi sukupolvi taaksepäin. Aiempien – viidennen, kuudennen jne. – sukupolvien merkitys on vähäinen geneettisen vaihtelun analysoinnissa.

Jokaisesta kolmesta aineistosta poistettiin R-ohjelman duplicated-komennolla saman hevosen mahdolliset toiseen kertaan esiintyvät terveystiedot. Tällaisia tapauksia oli Ryhmässä 2 kaksi kappaletta. Nämä olivat hevosia, jotka oli kuvattu kantakirjausta varten useampana eri vuonna. Ryhmästä 1 poistettiin yksi duplikaatti. Ryhmässä 3 oli ainoastaan kertaalleen kuvattuja hevosia. Myös sukupuuaaineistosta poistettiin neljä duplikaattia ja lisäksi kahden hevosen tiedot poistettiin kokonaan rekisterinumeroissa ilmenneen virheen vuoksi.

Duplikaatit poistettiin myös yhdistetystä aineistosta, jossa niitä oli 25 kappaletta. Tämä on mahdollista tilanteissa, joissa hevonen on jostain syystä kuvattu aiemmin ja kuvattu tämän jälkeen myös kantakirjaustarkoituksessa. Yhdistetyssä aineistossa oli kaksi hevosta, joilla terveystiedot poikkesivat eri kuvauskerroilla. Näistä säilytettiin ainoastaan sairaaksi luokiteltu tieto, sillä oletettiin, että hevonen on operoitu kirurgisesti ennen jälkimmäistä kuvausta, mikä puolestaan ei poista sitä, että hevonen on jo kertaalleen todettu sairaaksi.

Aineiston käsittely jatkui laskemalla kinship-ohjelmalla tutkituille hevosille sukusiitosasteet. Tämän jälkeen analysoitiin kiinteät tekijät. Tämä tapahtui R-ohjelmalla glm, joka epälineaarisen kynnysmallin avulla tulkitsee kategoriset sairaustiedot normaalisti jakautuneeksi alttiusominaisuudeksi. Epälineaarinen malli oli normaalijakaumaan tukeutuva probit-malli, jossa kynnysarvo jakaa alttiuden vaihtelun ilmenemisen havaintoasteikolla terveisiin ja sairaisiin yksilöihin. Perinnöllisen vaihtelun analyysi suoritettiin MCMCglmm-ohjelmalla, jota voidaan käyttää sekä kategorisen ominaisuuden lineaariseen analyysiin että alttiusominaisuuden epälineaariseen analyysiin (Gianola 1982). Probit-mallin yhteydessä heritabiliteetin laskemisessa on nimittäjässä eläin- ja residuaalitekijän varianssikomponentin lisäksi linkkifunktiosta johtuen $n1$. Lineaarimallissa tarkasteltiin isien välistä vaihtelua ja epälineaarisessa käytettiin eläinmallia. Analyysi huomioi sukupuutiedot. Analyysissa muodostetaan prior-jakaumaa ja havaintoaineistoa käyttäen parametrien posterior-jakaumat ja MCMCglmm poimii otoksia tästä jakaumasta. Saadun additiivisen vaihtelun ja jäännösvaihtelun avulla muodostetaan heritabiliteettien posterior-jakaumat.

Isämallin 1/0- asteikolla saadut heritabiliteetit pitää kertoa 4:llä, ja muuttaminen 1/0-asteikon heritabiliteeteistä alttiuden heritabiliteeteiksi tehdään kertomalla edellinen

alttiusasteikon normaalijakauman kynnsarvoa vastaavia arvoja ($z = \text{standardoidun normaalijakauman koordinaatti ja } p = \text{sairauden frekvenssi, kerrointa } z^2 / [p(1-p)]$) käyttäen (Robertson ja Lerner 1949).

6.1.1 Turvotustiedot

Ryhmän 1 nuoria suomenhevosia kuvattiin joulukuun 2014 ja huhtikuun 2015 välisenä aikana 654. Näiden hevosten omistajat / valmentajat täyttivät kuvauksen yhteydessä lomakkeen, jossa kertoivat hevosella mahdollisesti ilmenneiden nivelturvotusten sijainnista, kestosta ja vakavuudesta. Tulokset turvotusten osalta olivat hyvin vaihtelevia. Vain pieni osa omistajista merkitsi tiedot tarkasti pyydetyllä tavalla, kun taas suurin osa kirjoitti vapaamuotoisesti ja epätasaisesti. Turvotustietojen osalta tulokset eivät ole luotettavia, eikä niitä tästä syystä tässä esitetä.

7 TULOKSET

Tulokset esitetään erikseen Ryhmästä 1 ja yhdistetystä aineistosta. Sairastuneiden hevosten kokonaisfrekvenssi näkyy myös tarkempana ryhmäkohtaisena jaotteluna.

7.1 Frekvenssit

Aineiston tärkeimmät frekvenssit hevosten lukumäärän ja osteokondroosimuutosten osalta esitetään jokaiselle ryhmälle erikseen.

7.1.1 Kokonaisfrekvenssi

Kaikkiaan tutkituista 1804 hevosesta 13 %:lla oli osteokondroosimuutoksia jossain nivelessä (Taulukko 3). Nykypopulaatiota edustavimmin kuvaavassa aineistossa, eli Ryhmässä 1, muutoksia oli 17,0 %:lla kuvatuista. Matalin frekvenssi, 10,0 % oli Ryhmässä 2, jossa hevoset ovat mukana olevien aineistojen vanhimpia yksilöitä.

Taulukko 3. Kuvatuissa suomenhevosissa osteokondroosimuutoksia omaavien osuus ryhmäkohtaisesti.

	Ryhmä 1	Ryhmä 2	Ryhmä 3	Yhteensä
Hevosia yhteensä	654	889	261	1804
Hevosia, joilla muutoksia ≥ 1 nivelessä	111	91	33	235
Osuus	16,97 %	10,24 %	12,64 %	13,03 %

7.1.2 Muutoksia useammassa nivelessä

Tulosten tulkinnan kannalta on oleellista esittää frekvenssit myös hevosista, joilla muutoksia esiintyi kahdessa tai useammassa nivelessä.

Ryhmässä 1 2,6 %:lla hevosista muutoksia oli kahdessa tai useammassa nivelessä, ja näiden osuus ryhmän sairastuneista oli 15 % (Taulukko 4). Ryhmässä 2 vastaavasti useampia muutoksia löytyi 2,8 %:lla, mikä on 27,5 % kaikista ryhmän sairastuneista. Ryhmässä 3 tällaisia hevosia oli 1,9 % ja 15 % sairastuneista.

Taulukko 4. Hevoset, joilla muutoksia oli kahdessa tai useammassa nivelessä.

	Ryhmä 1	Ryhmä 2	Ryhmä 3
Muutosten lkm			
0	543	798	228
1	94	66	28
2	14	23	5
3	2	2	0
4	1	0	0
Muutoksia ≥ 2 koko ryhmä %	2,60	2,81	1,92
Muutoksia ≥ 2 sairaista %	15,32	27,47	15,15

7.1.3 Nivelkohtaiset frekvenssit

Nivelkohtaiset muutokset on esitetty niin absoluuttisina kuin suhteellisina osuuksina. Lukuun on huomioitu kaikki yksilöt, joilla esiintyy muutos / muutoksia tarkastellussa

nivelessä. Nivelen muutos ilmoitettiin kaksiluokkaisena niin, että toisessa luokassa ovat terveet ja toisessa hevoset, joilla on muutoksia joko vasemman tai oikean puolen nivelessä tai molemmissa. Kolmiluokkaisen asteikon käyttäminen (ei muutoksia, vain toinen nivel, molemmat nivelet) ei olisi tuonut analyysiin juurikaan lisäinformaatiota. Käytännössä siis, jos hevosella löytyi osteokondroosimuutos esimerkiksi molemmasta kintereestä, on hevonen laskettu mukaan vain yhden kerran.

Korkein nivelkohtainen frekvenssi oli kintereen muutoksilla. Ryhmässä 1 5,2 %:lla ja yhdistetyssä aineistossa 3,5 %:lla hevosista löytyi muutoksia kintereessä (Taulukko 5). Takajalkojen Birkeland-muutosten frekvenssit olivat Ryhmässä 1 3,8 % ja yhdistetyssä aineistossa 2,8 %. Myös etu- ja takajalkojen vuohisten etupinnan muutoksilla oli huomattavat frekvenssit. Etujaloissa nämä frekvenssit olivat 2,5 ja 3,2 %. Takajalkojen vastaavat frekvenssit olivat 2,4 ja 2,0 %.

Taulukko 5. Kuvattujen suomenhevosten nivelkohtaisten muutosten frekvenssit. Alleviivattuna korkeimmat frekvenssit.

	<u>Ryhmä 1</u>		<u>Yhdistetty aineisto</u>	
Nivel	Lukumäärä	%	Lukumäärä	%
<u>Etujalat</u>				
Kavionivel	3	0,46	7	0,39
Kehänivel	2	0,31	2	0,11
<u>Vuohisen etupinta</u>	<u>16</u>	<u>2,45</u>	<u>57</u>	<u>3,16</u>
Sääriluun etupinta	7	1,07	-	-
Birkeland	5	0,76	5	0,28
<u>Takajalat</u>				
Kavionivel	2	0,31	3	0,17
<u>Vuohisen etupinta</u>	<u>14</u>	<u>2,14</u>	<u>36</u>	<u>2,00</u>
Sääriluun etupinta	7	1,07	-	-
<u>Birkeland</u>	<u>25</u>	<u>3,82</u>	<u>51</u>	<u>2,83</u>
<u>Kinner</u>	<u>34</u>	<u>5,20</u>	<u>63</u>	<u>3,49</u>
Takapolvi	7	1,07	24	1,33

7.2 Fenotyyppiset korrelaatiot

Muutosten esiintymisessä oli havaittavissa selvä fenotyyppinen korrelaatio vasemman ja oikean puolen välillä. Taulukossa 6 on esitetty nivelet, joilla oli korkeimmat korrelaatiot. Yhdistetyssä aineistossa takapolvien osteokondroosimuutosten fenotyyppinen korrelaatio oli puolten välillä jopa 0,594. Vertailun tekemiseksi korrelaatiokertoimien keskivirheen kaava on $\sqrt{(1-r^2)/n-2}$.

Taulukko 6. Tutkimuksessa kuvattujen suomenhevosten oikean ja vasemman puolen nivelkohtaisten havaintojen korkeimmat fenotyyppiset korrelaatiot.

	Ryhmä 1	Yhdistetty aineisto
Takapolvet	0,245	0,594
Etujalkojen kavionivelet	0,498	0,446
Kintereet	0,234	0,33
Etujalkojen vuohisten etupinnat	0,106	0,202
Etujalkojen sääriluun etupinnat	0,254	-

Ei-geneettisen vaihtelun suuruudesta saadaan viitteitä, kun hevosen saman nivelen eri puolten kuvauksesta saadaan eriävä tulos. Mitä suurempi korrelaatio on, sitä suurempi voi olla myös geneettisen vaihtelun osuus. Koska eläinten välillä on eri määrä ei-geneettistä vaihtelua, oikean ja vasemman puolen korrelaatio antaa vain viitteellisen käsityksen geneettisen vaihtelun osuudesta.

7.3 Tilastollinen malli

Vaihtelun analysoinnin tarkoitus on geneettisten tekijöiden osuuden, eli valinnalla saadun muutoksen mahdollisuuden määrittäminen kokonaisvaihtelusta. Ennen geneettistä analyysiä on kuitenkin selvitettävä, onko aineistossa muita kuin geneettisiä tekijöitä, jotka vaikuttavat vaihteluun, eli niin sanottu kiinteiden tekijöiden analysointi. Vasta tämän jälkeen on mahdollista arvioida jäljelle jäävästä vaihtelusta additiivisen geneettisen vaihtelun määrä ja osuus (heritabiliteetti).

7.3.1 Kiinteät tekijät

Muuttujien vaihteluun vaikuttavien tekijöiden mallissa huomioitua kiinteitä tekijä analyysoitiin nivelkohtaisesti. Näitä kiinteitä tekijöitä olivat sukupuoli, syntymäajankohta, syntymävuosi, ikä kuvaushetkellä, klinikka ja sukusiitosaste. Sukusiitosaste oli regressiomuuttuja ja muut olivat luokittelevia muuttujia.

Kiinteät tekijät luokiteltiin tekijäkohtaisesti vastaamaan parhaiten käytännön vaikutuksia. Syntymäajankohta jaoteltiin kolmeen alaluokkaan: tammikuu – huhtikuu, toukokuu – elokuu ja syyskuu – joulukuu. Luonnollisesti merkittävä osa suomenhevosvarsoista on syntynyt toukokuun ja elokuun välisenä aikana. Sukupuoli jaoteltiin kahteen luokkaan niin, että oriit ja ruunat olivat yhtenä alaluokkana ja tammot omanaan. Kiinteät tekijät analyysoitiin yksitellen ja poistettiin analyysistä, jos ne eivät osoittautuneet merkitseviksi.

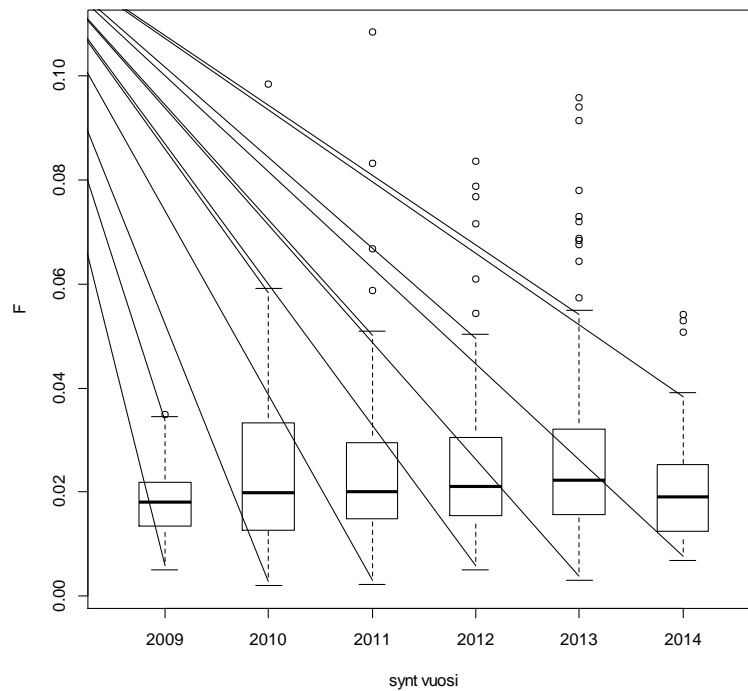
Kynnysominaisuuksia – sairas vs. terve – analyysoitiin käyttämällä havaintojen takana olevana jatkuvana muuttujana alttiutta. Mallin avulla selvitetään, missä kohti alttiutta ylittää kynnyksen, mistä seuraa sairastuminen ja lisääkö jokin tekijä alttiutta. Yleensä oletetaan, että alttiutta johtuu suuresta tekijäjoukosta ja että geneettisten tekijöiden ja muiden tekijöiden aiheuttama vaihtelu jakautuu suurin piirtein normaalijakauman mukaisesti. Kun alttiutta on normaalisti jakautunut, sairastumisen todennäköisyys tai -riski saadaan kynnyksen ylittävästä jakauman osasta.

Kiinteiden tekijöiden vaikutus tutkittiin yleisellä lineaarimallilla käyttäen alttiuden normaalijakauman mukaan probit-mallia (Finney 1964) ja suorittamalla analyysi R-ohjelmalla glm. Mallin tekijöiden arvojen ratkaiseminen suoritettiin iteroimalla ja jo 15 iterointikierrosta antoi tuloksen. Sukusiitosasteiden laskemisessa käytettiin R-ohjelmiston Kinship-ohjelmaa ja sukusiitosasteiden laskennassa otettiin huomioon kaikki saatavilla ollut sukupuutieto. Sen lisäksi, että ominaisuus oli joko-tai -muuttuja, myös sairausluokan alhaiset frekvenssit vaikeuttivat analysointia ja esimerkiksi takajalkojen sääriluun etupintojen hyvin harvinaisten muutosten esiintymiseen vaikuttavista tekijöistä ei saatu tulosta lainkaan.

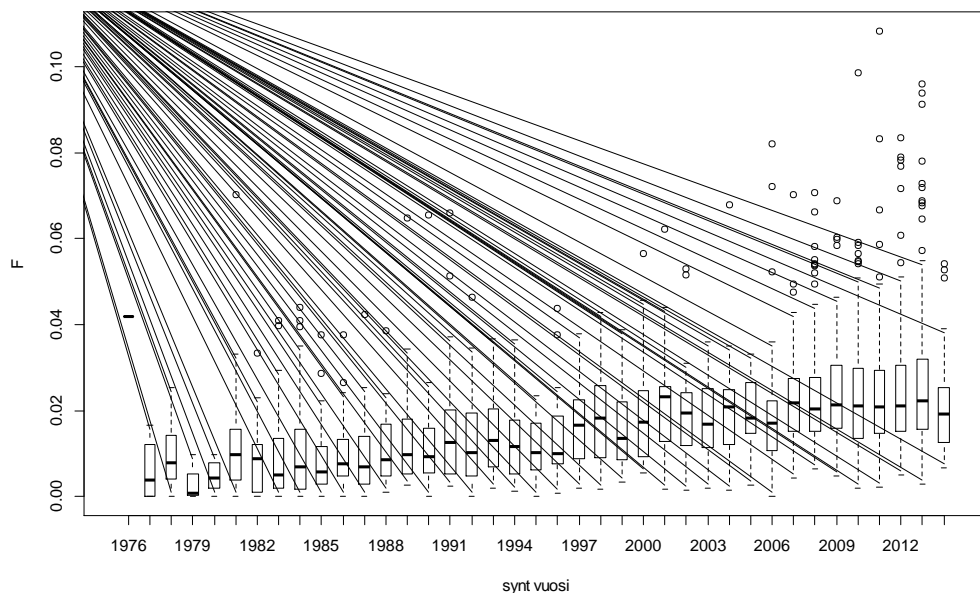
Kiinteistä tekijöistä vain muutaman vaikutus oli tilastollisesti merkitsevä. Ryhmässä 1 ainoastaan sukusiitosasteen vaikutus oli tilastollisesti merkitsevä (takajalan kavionivel, $P < 0.01$), yhdistetyssä aineistossa samoin sukusiitosaste (kinner, $P < 0.05$; takajalan kavionivel $P < 0.01$) ja syntymäkausi (etujalan Birkeland, $P < 0.05$). Sukusiitosasteen nousu lisäsi alttiutta muutoksille. Ryhmässä 1 havaittiin lisäksi sukupuolen vaikutus kintereen muutokseen ($P=0.068$) niin, että tammoilla on pienempi todennäköisyys muutoksille kuin oreilla ja ruunilla.

Geneettisiin analyyseihin mukaan otettiin enää sukupuoli ja sukusiitoskerroin. Niidenkin merkitsevyys katosi jatkoanalyyseissä, kun satunnaisten tekijöiden isän tai eläimen vaikutus otettiin huomioon. Sukupuoli osoitti viitteitä merkitsevyydestä niin, että tammoilla osteokondroosimuutosten esiintyminen oli harvinaisempaa, eli alttiuden kynnysarvo oli matalampi kuin oreilla ja ruunilla. Myös sukusiitoksen nousu aiheutti alttiuden nousua, eli regressiokerroin oli positiivinen. Tällöin enemmän sukusiitetyillä hevosilla taudin saamisen riski on korkeampi. Klinikat olivat mukana eroteltavissa, mutta niiden vaikutus ei näkynyt. Myöskään ikä kuvaushetkellä, syntymävuosi tai syntymäajankohta eivät olleet tilastollisesti merkitseviä.

Sukusiitosasteen merkitys näkyi aluksi erityisesti kintereen osalta. Alla olevissa kuvissa (4 ja 5) näkyvät sukusiitosprosentit jaoteltuna syntymävuoden mukaan Ryhmälle 1 ja yhdistetylle aineistolle. Yhdistetyssä aineistossa (Kuva 5) on havaittavissa sukusiitosasteen lievä nousu.



Kuva 4. Hevosten sukusiitosasteet esitettynä kuvattujen Ryhmä 1:n suomenhevosten syntymävuoden mukaan. Kuvassa havaintojen mediaani (vaakaviiva) sekä ala- ja yläkvartiili (laatikko), jotka sisältävät 50 % havainnoista. Yksittäisillä pisteillä näkyvät havaintojen äärimmäiset arvot.



Kuva 5. Kuvattujen suomenhevosten yhdistetyn aineiston sukusiitosasteet esitettynä hevosten syntymävuoden mukaan.

Kiinteiden tekijöiden analyysin tulostus havainnollistetaan käyttäen esimerkkinä kintereen muutoksia yhdistetyssä aineistossa. Analyysissa on eroteltu vasemman ja oikean puolen muutokset, joten havaintojen kokonaismäärä on kuvattujen hevosten

lukumäärä kaksinkertaisena, eli 1308. Analyysi suoritettiin kuten varsianssikomponenteillekin ja se näkyy Taulukossa 7.

Muut tekijät (sukupuoli, syntymävuosi, ikä kuvaushetkellä, klinikka) analysoitiin samalla tavalla, mutta ne eivät osoittautuneet merkitseviksi.

Taulukko 7. R-ohjelmistossa olevan glm-analyysin tulostus, kun kiinteän tekijän (regressiomuuttuja sukusiitosaste) analyysi on tehty yhdistetyn aineiston kaksiluokkaiselle (binomial) kinnermuutokselle (y) kynnsominaisuutena (probit-malli).

```
Call:
glm(formula = y ~ F_coeff, family = binomial(link = "probit"),
     data = DATA)
```

^a Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.9217	-0.2736	-0.2594	-0.2458	2.6956

^b Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-1.93604	0.08529	-22.700	<2e-16 ***
F_coeff	5.87333	2.94534	1.994	0.0461 *

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

^c Null deviance: 546.46 on 1803 degrees of freedom
Residual deviance: 542.91 on 1802 degrees of freedom
AIC: 546.91

Number of Fisher Scoring iterations: 6

^a Jäännöspoikkeamien jakauman parametreja.

^b Keskiarvon estimaatti; kiinteiden tekijöiden alaluokkien vaikutusten erotus tai poikkeama ensimmäisen alaluokan vaikutuksesta; näiden keskivirhe (standard error); testisuurena (z value) on estimaatti jaettuna keskivirheellä; kaksisuuntainen (suurilla aineistoilla) normaalijakaumaan perustuva testi 0:sta poikkeamisen merkitsevyydelle (Pr(>|z|)); merkitsevyyden perinteinen *-koodaus

^c mallin yhteensopivuuden F-parametrin kaltaisessa testauksessa keskiarvo (Null deviance) ja koko malli (Residual deviance); eri mallien vertailuun sopiva testaus (AIC)

7.3.2 Geneettisen vaihtelun analysointi

Aineiston geneettisen vaihtelun analysointi aloitettiin tutkimalla eläinmallilla epälinearisella analyysillä kynnsominaisuutta, eli alttiutta. Alttiutta tutkittiin, sillä terveetkin yksilöt voivat erota toisistaan niiden alttiudessa kiinteiden tekijöiden muutoksille. Kun alttiutta ylittää esimerkiksi jonkin fysiologisen kynnsarvon, muutos

tulee esille. Eläinmalli-analyysillä voidaan hyödyntää hyvin sukulaistietoja ja voidaan isän lisäksi ottaa mukaan emän vaikutus. Näin analyysillä on mahdollisesti hyvä erottelukyky myös kiinteiden tekijöiden arviointiin. Analyysi tapahtui R-ohjelmiston MCMCglmm-ohjelmalla (Hadfield 2010). Teknisesti laskenta oli bayesläinen analyysi, jossa käytettiin klassista ei-informatiivista prioria, joka ei vaikuta tulokseen tai ohjaa sitä. Tuloksena on estimaatin posterior-jakauma, jonka huippu on arvioitavan varianssikomponentin todennäköisin arvo ja jakaumasta saadaan myös arviolle 95 %:n uskottavuusalue, mikä voidaan tulkita 95 %:n luottamusväliksi (Sorensen ja Gianola 2002).

Tavoitteena oli, että posterior-jakaumassa estimaatin tehollisia eli riippumattomia arviopisteitä on eläimestä johtuvalle (geneettiselle) varianssikomponentille vähintään 100. Näihin vaatimuksiin päästiin noin 500 000 iteroitokierroksessa. Alun lämmittelyvaiheeksi (burn-in) määriteltiin kymmenen prosenttia poimintakierrosten kokonaismäärästä, jonka alkuosasta tulokset eivät olleet mukana posterior-jakaumassa. Posterior-jakauman tarkasteluun poimittiin alun jälkeen joka 500:s tulos (thinning interval). Alhainen muutosfrekvenssi oli analyysissä hyvin ongelmallinen ja posterior-jakauman riittävän suuren tehollisen arviojoukon saamiseksi tarvittiin yhdestä viiteen miljoonaa kierrosta yhdessä MCMCglmm-analyysissä.

Alhaisten esiintymisfrekvenssien tuomien ongelmien vuoksi eläinmalli-analyyseillä ei saatu järkeviä tuloksia, joten aineiston analysoinnissa siirryttiin lineaariseen isämalliin havaintojen mukaisella terve-sairas-asteikolla. Tässä mallissa olivat mukana kiinteät tekijät ja isän geneettinen vaikutus. Isämallissa ei tarkasteltu alttiutta sairastumiseen, koska tämän ei todettu tuovan lisäinformaatiota, kun orien jälkeläiset ovat joko sairaita tai terveitä. Isämallia käytettäessä pienissä aineistoissa on vaara, että heritabiliteettiä joka ali- tai yliarvioidaan riippuen perherakenteesta. Suurimman sairastumisfrekvenssin tapauksessa (kinner) voidaan isämallilla saatua arviota verrata alttiusmuuttujalle tehdyssä eläinmalli-analyysistä saatuun tulokseen.

Isämallia käytettäessä tutkitaan sairauksien esiintymistä perheissä, eli onko isien jälkeläisryhmien välillä eroja. Myös isien välinen sukulaisuus otettiin huomioon. Tarkoituksena on selvittää, onko havaitun vaihtelun taustalla geneettinen komponentti. Käytännössä tutkitaan sitä, onko jonkin isän jälkeläisryhmällä korkeampi frekvenssi

osteokondroosin ilmentymisessä kuin jollain toisella. Samalla periaatteella käyttäen sukulaisuuksia tutkitaan samalla, onko isoisien jälkeläisryhmien välillä eroja.

Alttiuden hyödyntäminen mallissa on hienojakoisempaa tutkimista. Tällöin siis oletetaan, että sairauden taustalla on fysiologinen tila, joka altistaa sairastumiselle. Alttiuden avulla saadaan enemmän eroja näkyville, mutta käytön edellytyksenä on isämallia suurempi eläinmäärä tai sairauden korkeampi esiintymisfrekvenssi.

7.3.3 Esimerkki MCMCglmm-ohjelman käytöstä

Esimerkissä analysoitavana on etujalkojen vuohisten Birkeland-muutokset käyttäen eläinmallia ja kynnysominaisuutta. Analyysi suoritettiin 5 miljoonalla MCMC-kierroksella. Thinning interval on 2 000 eli joka 2 000:s tulos käytetään posteriorijakauman muodostamiseen.

Eläimestä johtuvan vaihtelun komponentin analysoinnissa tehollinen tulospisteiden vähimmäismäärä on 100. Jäännösvaihtelun komponentti on asetettu 1:ksi.

Taulukko 8. Yhdistetyn aineiston etujalkojen vuohisten Birkeland-muutosten analyysi eläinmallilla kynnysominaisuutena.

```

a Iterations = 50001:4998001
    Thinning interval = 2000
    Sample size = 2475

DIC: 45.52888

b G-structure: ~animal

      post.mean  1-95% CI u-95% CI eff.samp
animal      2.651 3.557e-08   8.441   122.1

R-structure: ~units

      c post.mean 1-95% CI u-95% CI eff.samp
units          1         1         1         0

d Location effects: y ~ sukupuoli + sukusiitosaste

      post.mean 1-95% CI u-95% CI eff.samp pMCMC
(Intercept) -    5.8684 -9.5266 -3.5744   135.9 <4e-04 ***
sukupuoli_t    -0.4951 -2.4158  1.1559   776.4  0.611
sukusiitosaste  3.8824 -32.3145 36.2539  1762.1  0.707
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

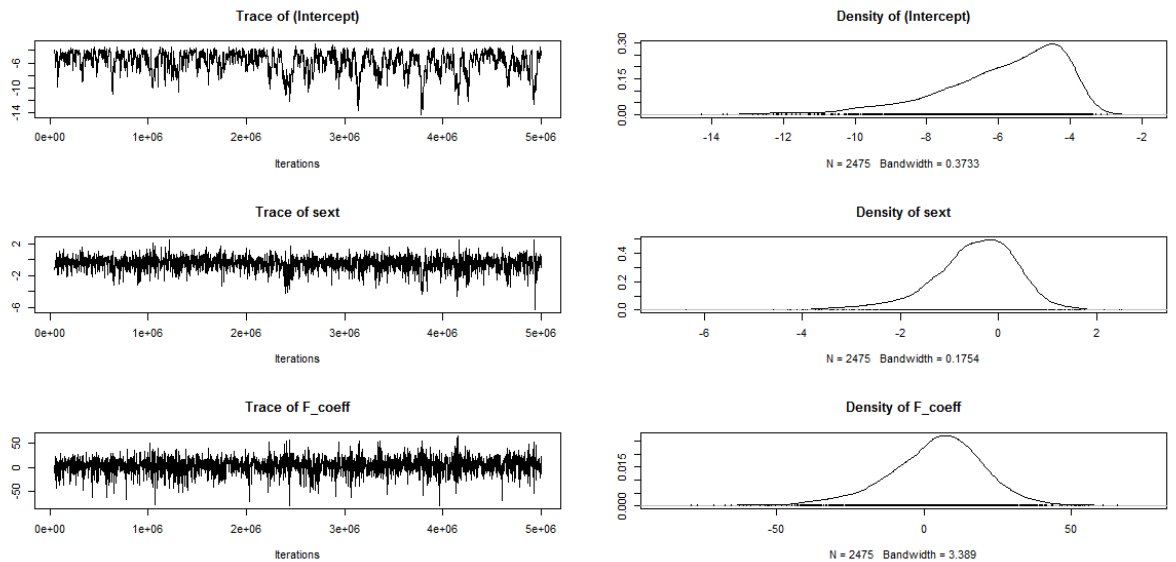

^a Posterior-jakauman muodostamiseen tarvittujen poimintakierrosten (Iterations) luettelo; tulosten poimintaväli (Thinning interval) kierroksista; analyysiin poimittujen tulosten määrä (Sample size); mallin sopivuuden kuvaaminen (DIC, kuten edellä AIC).

^b Mallissa olevan eläimen (satunnaisen) geneettisen vaikutuksen (animal) posterior-jakauman (G-structure) parametrit keskiarvo (post.mean), sen ympärillä oleva 95%:n uskottavuusalueen alku- ja loppupää (1-95% CI u-95% CI, credibility interval) ja jakauman tehollisten (riippumattomien) tulosten (eff.samp) määrä.

^c Jäännöspoikkeamien varianssiksi asetetaan probit-mallissa 1 ja sitä seuraten ovat keskiarvo, uskottavuusalue ja tehollisten tulosten määrä

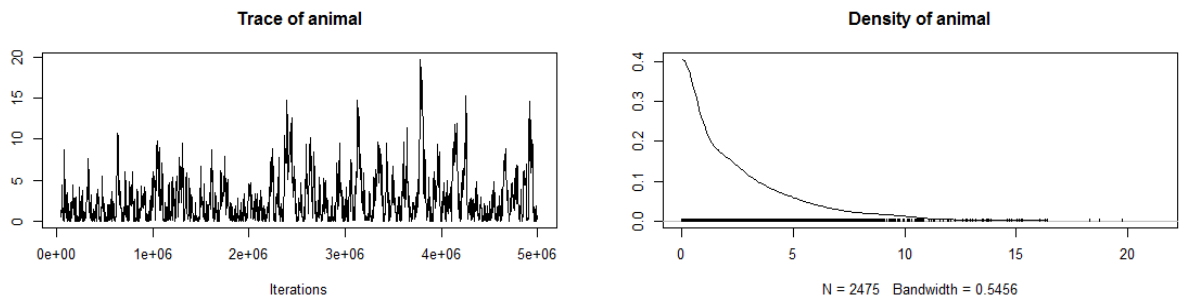
^d Kiinteiden tekijöiden (location effects) analyysi suoritettiin kuten edellä selostetussa glm-tulostuksessa

Kiinteiden tekijöiden posterior-jakaumat (Kuva 6) ovat melko symmetrisesti 0:n ympärillä eivätkä näiden tekijöiden vaikutukset ole merkitseviä.



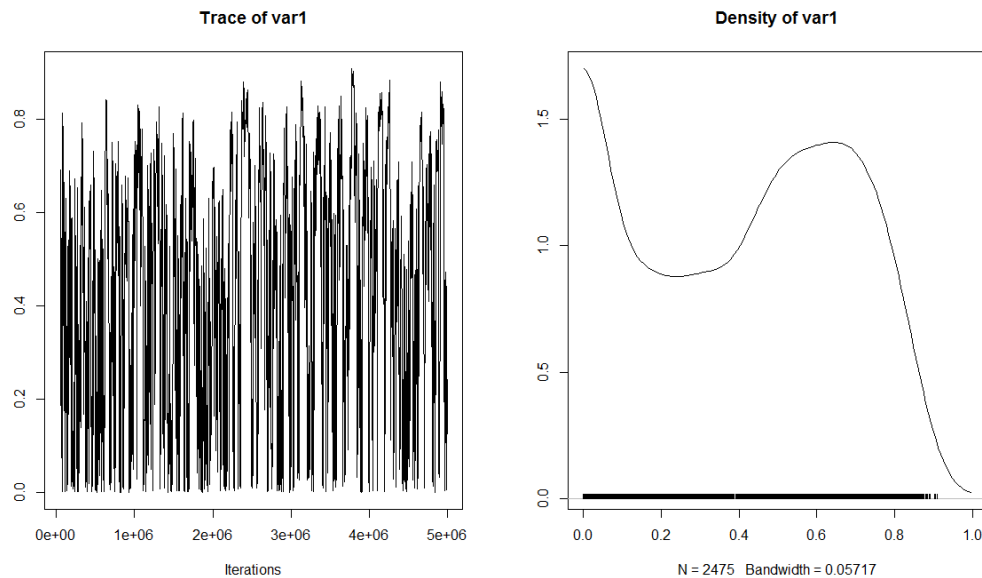
Kuva 6. Kiinteiden tekijöiden (sukupuoli ja sukusiitosaste) posterior-jakaumat etujalkojen vuohisten Birkeland-muutoksista käyttäen eläinmallia ja kynnsominaisuutta.

Kuvassa 7 näkyy kiinteiden tekijöiden analyysin kierrosten määrä vaaka-akselilla ja tulos y-akselilla vasemmalla ja oikealla posterior-jakauma (bandwidth ilmaisee piirroksen tarkkuutta). Kuvaajasta voi nähdä, että eläinvaikutusten posterior-jakauman keskiarvo (erityisesti moodi) ei poikkea 0:sta, eikä geneettinen vaihtelu ole merkitsevää.



Kuva 7. Eläinvaikutuksen posterior-jakauma etujalkojen vuohisten Birkeland-muutosten analysistä.

Periytmisasteen posterior-jakauma on kaksihuippuinen, eivtkä tulokset ole käyttkelpoisia (Kuva 8).



Kuva 8. Periytmisasteen posterior-jakauma etujalkojen vuohisten Birkeland-muutosten analysistä.

Heritabiliteetin (h^2) posterior-jakauman keskiarvo (mean), mediaani (median) ja keskihajonta (sd) sekä 95 %:n uskottavuusalue (HPD, highest posterior density) ja siihen liittyvä todennköisyys on esitetty alla näkyvässä R-tulosteessa (Taulukko 9). Komennot `temp <- table(as.vector(round(h2,4))); names(temp)[temp == max(temp)]` laskevat moodin (= 0). Lopussa on kierrosten eri etäisyyksillä (Lag) olevien tulosten korrelaatio eläinvaikutukselle, mistä nähdään että 100 000:n välein otetut arviot ovat riippumattomia (korrelaatio on 0:n paikkeilla).

Taulukko 9. Etujalkojen vuohisten Birkeland-muutosten heritabiliteetin posterior-jakauman estimaatit (selitykset tekstissä).

```

mean(h2)
[1] 0.4375237
median(h2)
[1] 0.4758164
sd(h2)
[1] 0.2573761

HPDinterval(h2)
      lower      upper
var1 1.778302e-08 0.8084559
attr(,"Probability")
[1] 0.949899

temp <- table(as.vector(round(h2,4)))
names(temp)[temp == max(temp)]
[1] "0"

autocorr.diag(model_1$VCV)
      animal units
Lag 0      1.0000000  NaN
Lag 2000   0.87662694  NaN
Lag 10000  0.61751791  NaN
Lag 20000  0.36620499  NaN
Lag 1e+05 -0.05592443  NaN

```

7.4 Periytmisaste

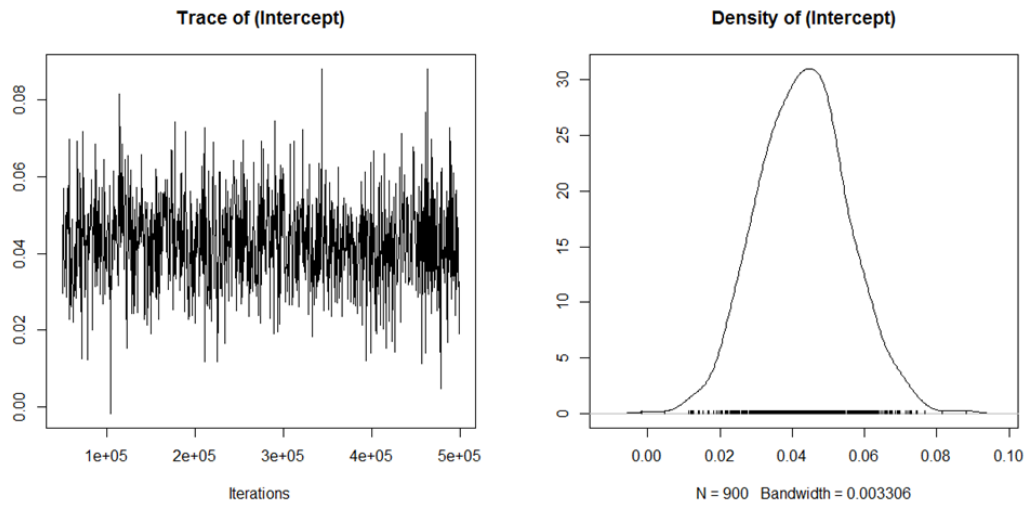
7.4.1 Isämalli

Jos eri isien jälkeläiset ovat selvästi erilaisia, on se merkki isien geneettisistä eroista ja populaatiossa olevasta geneettisestä vaihtelusta. Isämallin avulla tutkitaan vaihtelua isien jälkeläisryhmien välillä. Mallia hyödyntämällä selvitetään, johtuuko havaittu vaihtelu geneettisistä tekijöistä ja kuinka suuri osa vaihtelusta on selitettävissä isän kautta. Lisäksi nivelestä riippuen mallissa pidetään mukana aiemmissa analyyseissä viitteitä merkityksestä antaneet kiinteät tekijät (sukupuoli ja sukusiitosaste).

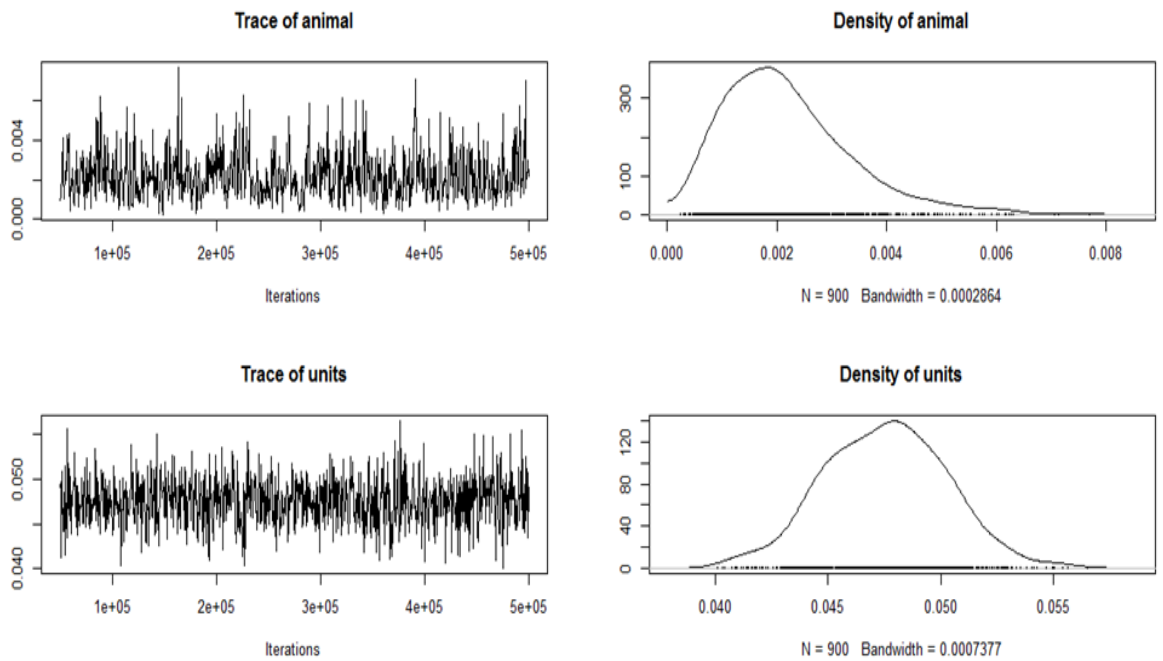
Ryhmä 1

Alla on esitelty yksityiskohdat Ryhmän 1 kintereen periytmisasteen laskemisesta (Kuvat 9 ja 10). Havainnot ovat 1/0-asteikolla (tavallinen lineaarimalli). Lopullisessa analyysissä ei ollut kiinteitä tekijöitä mukana, koska ne eivät enää osoittautuneet merkityksiksi. Periytmisasteen keskiarvo on 0,18 (-mediaani 0,16, moodi 0,16). Periytmisasteen laskettu 95 %:n uskottavuusalue on 0,03 – 0,35 (Taulukko 10). Tulos

saatiin 500 000 iterointikierröksellä, burn in -kierrosten määrä 50 000, thinning interval 500, mikä antoi eläinkomponentin arvioinnin teholliseksi otosmääräksi 509.



Kuva 9. Analyysituloksista keskiarvon iterointitulosten kuvaaja Ryhmästä 1 analysoiduille kintereen muutoksille.



Kuva 10. Ylempänä isävarianssin posterior-jakauma ja sama jäännösvarianssille Ryhmästä 1 analysoiduille kintereen muutoksille.

Taulukko 10. Ryhmän 1 kintereen muutosten heritabiliteetin posterior-jakauman estimaatit isämallilla analysoitaessa.

```

Iterations = 50001:499501
Thinning interval = 500
Sample size = 900

DIC: -113.4783

G-structure: ~animal

      post.mean 1-95% CI u-95% CI eff.samp
animal 0.002195 0.0004016 0.004639   508.6

R-structure: ~units

      post.mean 1-95% CI u-95% CI eff.samp
units 0.04754 0.04253 0.053   1216

Location effects: y ~ 1

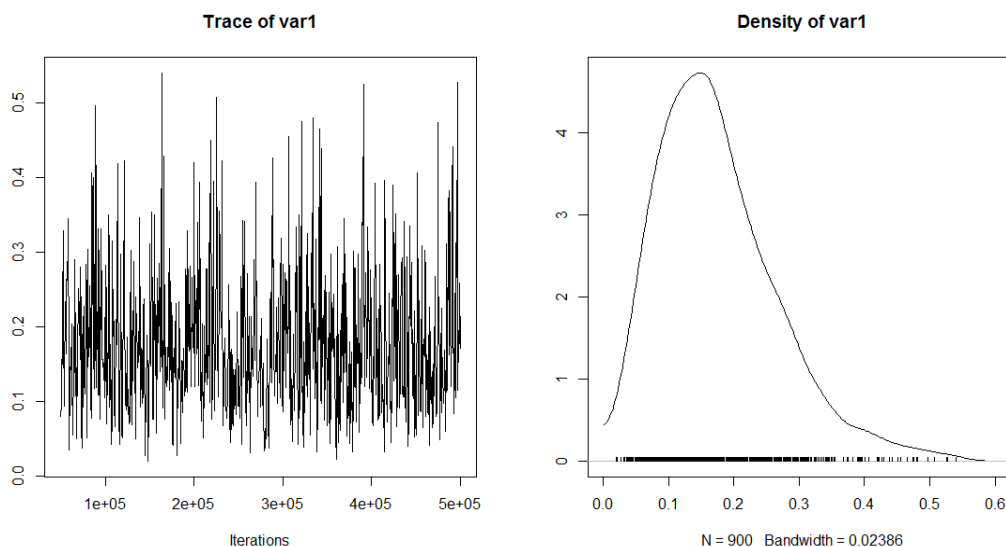
      post.mean 1-95% CI u-95% CI eff.samp pMCMC
(Intercept) 0.04302 0.02144 0.06937   900 0.00222 **
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

HPDinterval(h2)
      lower      upper
var1 0.03193931 0.3509265
attr(,"Probability")
[1] 0.95

temp <- table(as.vector(round(h2,3)))
names(temp)[temp == max(temp)]
[1] "0.169"

autocorr.diag(model$VCV)
      animal      units
Lag 0 1.00000000 1.00000000
Lag 500 0.27734306 0.004499848
Lag 2500 0.03225489 0.039962192
Lag 5000 -0.02836394 0.009043904
Lag 25000 -0.01501682 0.017172582

```



Kuva 11. Isämallilla analysoidun kinnernivelen muutosten vaihtelun heritabiliteetin posterior-jakauma Ryhmälle 1.

Taulukossa 11 on esitetty isämällillä saadut muutosten vaihtelun nivelkohtaiset periytymisasteet kootusti ryhmälle 1. Korkeimmat periytymisasteiden arviot olivat etujalkojen kavionivelillä ja takapolvilla. Myös etu- ja takajalkojen sääriluun etupintojen sekä etujalkojen Birkeland-muutosten arviot olivat melko korkeat.

Matalimmat periytymisasteiden arviot ovat puolestaan takajalkojen Birkeland-muutoksilla, sekä etu- ja takajalkojen vuohisluusta lähtöisin olevilla muutoksilla.

Taulukko 11. Suomenhevosten osteokondroosimuutosten isämällillä 1/0-asteikolla ilmaistun vaihtelun nivelkohtaiset periytymisasteet Ryhmässä 1. MCMCglimm-analysissä iterointikierrroksia 500 000. Alleviivattuna korkeimmat arvot.

Nivel	$h^2:n$ 95 %:n uskottavuusalue	Odotusarvo	Mediaani
<u>Etujalat</u>			
<u>Kavionivel</u>	0,12 – 0,55	<u>0,31</u>	<u>0,29</u>
Vuohisen etupinta	0,03 – 0,23	0,11	0,10
Sääriluun etupinta	0,07 – 0,40	0,22	0,20
Birkeland	0,07 – 0,48	0,25	0,23
<u>Takajalat</u>			
Vuohisen etupinta	0,03 – 0,24	0,12	0,11
Sääriluun etupinta	0,08 – 0,41	0,22	0,20
Birkeland	0,02 – 0,21	0,10	0,08
Kinner	0,03 – 0,35	0,18	0,16
<u>Takapolvi</u>	0,09 – 0,54	<u>0,31</u>	<u>0,30</u>

Yhdistetty aineisto

Yhdistetyssä aineistossa ovat mukana kaikki tutkitut hevoset, mutta vain yksi tulos sellaisista hevosista, jotka löytyvät useammasta ryhmästä. Taulukossa 12 ovat isämällillä saadut nivelkohtaiset periytymisasteet kootusti yhdistetylle aineistolle. Korkein periytymisasteen arvio on etujalkojen kavionivelillä, joiden periytymisasteen posterior-jakauman odotusarvo on 0,33 ja mediaani 0,32. Myös etujalkojen Birkeland-muutoksilla (0,26 ja 0,25) ja takapolvilla (0,17 ja 0,17) oli muita korkeammat arviot. Matalimmat periytymisasteiden arviot myös yhdistetyssä aineistossa olivat takajalkojen

Birkeland-muutoksilla sekä etu- ja takajalkojen vuohisluusta lähtöisin olevilla muutoksilla.

Taulukko 12. Suomenhevosten osteokondroosikuvausten yhdistetyssä aineistossa isämallilla 1/0-asteikolla ilmaistujen nivelmuutosten vaihtelun periytymisasteiden 95 %:n uskottavuusalue, odotusarvo ja mediaani eri nivelissä. MCMCglmm-analyysissä iterointikiertoja 500 000. Alleviivattuna korkeimmat arvot.

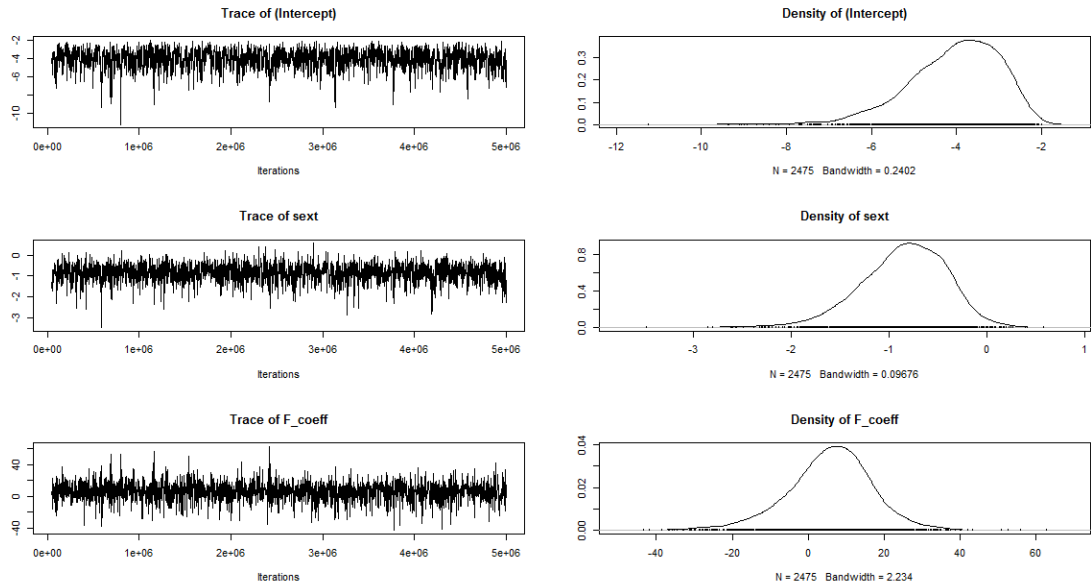
Nivel	h^2 :n 95 %:n uskottavuusalue	Odotusarvo	Mediaani
<u>Etujalat</u>			
Kavionivel	0,15 – 0,52	<u>0,33</u>	<u>0,32</u>
Vuohisen etupinta	0,27 - 0,20	0,10	0,10
Birkeland	0,14 – 0,44	0,26	0,25
<u>Takajalat</u>			
Vuohisen etupinta	0,03 – 0,14	0,08	0,07
Birkeland	0,02 – 0,13	0,07	0,07
Kinner	0,03 – 0,24	0,12	0,12
Takapolvi	0,06 – 0,30	0,17	0,17

7.4.2 Eläinmalli

Käytettäessä eläinmallia tutkitaan eläinten välistä vaihtelua ottaen huomioon myös emätiedot ja kaikki käytettävissä olevat isovanhempais- jne. tiedot.

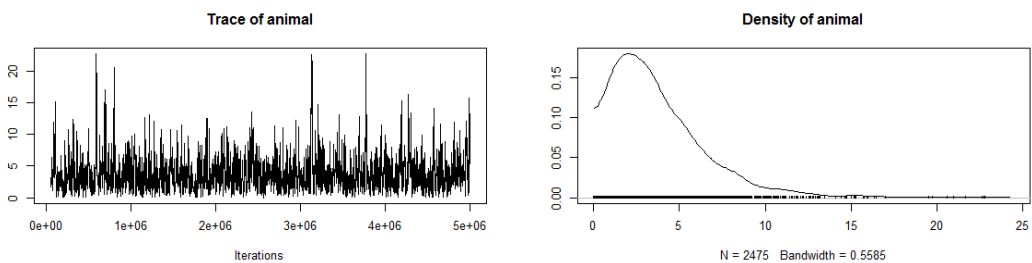
Alttiuden vaihtelua voidaan analysoida silloin, kun tutkittavien eläinten määrä on suuri tai kun sairauden esiintymisfrekvenssi ei ole kovin matala (<5%). Tästä syystä käytettävissä olleella aineistolla tulos saatiin vain kintereelle, jonka esiintymisfrekvenssi oli viisi prosenttia. Tästäkin huolimatta eläinmallianalyysi vaati runsaasti iterointikiertoja. Analyysi tehtiin yhdistetystä aineistosta. Kintereen tulos on saatu 5 miljoonalla kierroksella. Muiden nivelien osalta frekvenssi oli hyvin matala eikä niille saatu järkeviä tuloksia. Analyysissa on mukana sukupuoli ja sukusiitosaste kiinteinä tekijöinä (Kuva 12). Kintereellä analyysistä saatiin sukupuolelle merkitsevä vaikutus ja tammojen alttius oli pienempi kuin yhdessä analysoitujen oriiden ja ruunien (ero =

0,854 alttiuden standardoidun normaalijakauman asteikolla, $P = 0,283$) eli tammoilla muutoksia esiintyi vähemmän. Sukusiitosasteen vaikutus ei ollut merkitsevää. Kiinteistä tekijöistä sukupuoli antoi samalla tavalla viitteitä merkitsevyydestä käytettäessä isämallia.

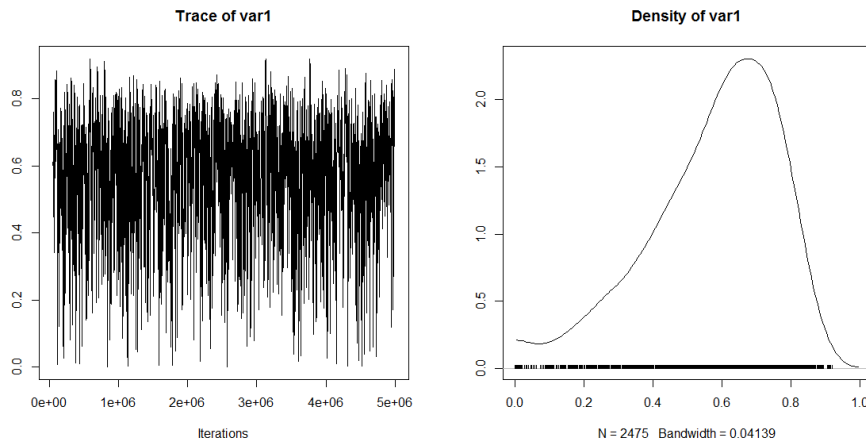


Kuva 12. Kiinteiden tekijöiden (sukupuoli ja sukusiitosaste) posterior-jakaumat kintereen muutoksille käyttäen eläinmallia ja kynnsominaisuutta.

Analyysissa eläinkomponentin tehollinen yksilömäärä oli 669. Periytymisasteen keskiarvo oli 0,58 ja mediaani 0,61. Periytymisasteen laskettu 95 %:n uskottavuusalue oli 0,16 – 0,87. MCMCglmm-tulosten ylemmässä kuvassa (Kuva 13) on esitetty geneettisen vaikutuksen ja alemmassa kuvassa (Kuva 14) heritabiliteetin analyysin poimintakerrokset, tulokset ja posterior-jakauma.



Kuva 13. Eläinvaikutuksen posterior-jakauma kintereen muutosten osalta yhdistetyssä aineistossa.



Kuva 14. Periytymisasteen posterior-jakauma kintereen muutosten osalta yhdistetyssä aineistossa.

7.4.3 Mallien vertailu

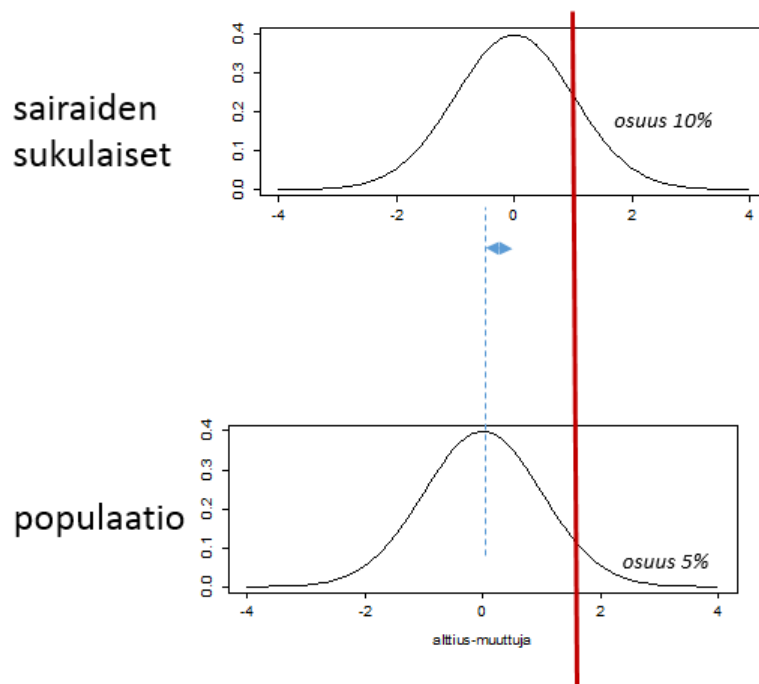
Jotta 1/0-asteikon havaintoja voidaan verrata alttiudella saatuihin tuloksiin, tulee 1/0-asteikolle lasketut heritabiliteetit kertoa 5-30:lla frekvenssistä riippuen (Robertson ja Lerner 1949). Eläinmallilla saatu alttiuden heritabiliteetti kintereelle on suurempi kuin 1/0-asteikon heritabiliteetti, mutta isämallilla 1/0-asteikolla saatu kinnermuutosten alttiuden heritabiliteettiestimaatti on hyvin suuri, jopa >1.0 , koska viiden prosentin frekvenssille saatu 1/0-asteikon heritabiliteetti on kerrottava 5:llä alttiuden heritabiliteetin saamiseksi.

Kokonaisuudessaan eri mallien tulokset vastaavat melko hyvin toisiaan kintereen muutosten osalta, mutta sama on havaittavissa myös muiden nivelien osalta isämallin tuloksissa Ryhmässä 1 ja yhdistetyssä aineistossa.

7.4.4 Riski sairastua

Jos sairastumisalttiuden vaihteluun vaikuttavat geneettiset tekijät, sairaiden yksilöiden sukulaisilla, esimerkiksi jälkeläisillä ja sisaruksilla, on suurempi riski sairastua osteokondroosiin kuin populaatiossa keskimäärin. Toisin sanottuna alttiusasteikolla sairastuneiden sukulaisissa on kynnsarvon ylittäneiden osuus isompi kuin populaatiossa keskimäärin.

Tarkastellaan esimerkkiä (Kuva 15), jossa sairauden esiintyminen on 5 %:n frekvenssillä ja sairastumisalttiuden heritabiliteetti oletetaan olevan 0,4. Alttius on normaalisti jakautunut ja silloin populaation sairastuneiden osuudesta 5 % seuraa sairastumiseen johtavan alttiuden kynnyсарvo 1,65 (standardin normaalijakauman mukaan). Soveltamalla yksilöiden valinnan ennustamislauseketta jälkeläisissä (tai yhtä paljon sukua olevissa täyssisarissa) näkyvän odotetun muutoksen arviointiin saadaan, että sairaiden sukulaisilla, esimerkiksi jälkeläisillä ja täyssisarilla, alttiuden odotettu poikkeama populaation keskiarvosta on $\frac{1}{2} \times h^2 \times$ sairaiden alttiuden poikkeama populaation keskiarvosta = 0,41 eli niissä sairaus esiintyy arvon $(1,65 - 0,41 =) 1,24$ ylittäneissä. Tämä osuus on noin 10 % eli populaation keskimääräiseen sairastumisriskiin 5 % verrattuna sairaiden sukulaisilla riski nivelmuutoksille on kaksinkertainen. Sukulaisten kasvanut riski olisi suhteellisesti suurempi, jos vian frekvenssi on alhaisempi ja / tai heritabiliteetti korkeampi.



Kuva 15. Havainnollistus sairaiden yksilöiden sukulaisien kasvaneesta sairastumisriskistä, kun alttius on normaalisti jakautunut ja populaatiossa sairastuneiden osuus on 5 % ja alttiuden heritabiliteetti on 0,4.

8 TULOSTEN TARKASTELU

Suomenhevosten kasvuhäiriötutkimus mahdollisti ensimmäisen laajan suomenhevosaineiston kuvaamisen osteokondroositutkimusta varten. Ryhmän 1 tulokset ovat edustava näyte populaation nykytilasta ja Ryhmien 2 ja 3 tulokset täydentävät tutkimusaineiston. Tulokset osoittavat, että osteokondroosimuutosten esiintymisfrekvenssit ovat pienempiä kuin esimerkiksi lämminverisillä hevosilla (Lewczuk ja Korwin-Kossakowska 2012), mutta sairauden esiintyminen vaikuttaa olevan nousussa.

Tutkimuksen tuloksiin vaikuttavat aineisto ja menetelmät. Saaduista tuloksista voidaan päätellä, miten valinnalla voidaan hillitä osteokondroosin esiintymistä ja millaisia vaatimuksia valintaohjelman pyörittäminen antaa tiedon keruulle: muutosten luokitukselle ja kuvattujen hevosten määrälle.

Geneettinen analyysi suoritettiin tutkimalla isien jälkeläisryhmien välistä vaihtelua kattavan sukupuuaineiston avulla. Analyysin haasteina olivat suuret erot jälkeläisryhmien koossa, nivelmuutosten erittäin alhainen frekvenssi ja suhteellisen alhainen tutkittujen hevosten lukumäärä. Yksinkertaisinta on tutkia isän vaikutusta sairauden ilmenemisen vaihteluun. Toinen vaihtoehto on käyttää kynnysominaisuustarkastelua muutosten alttiuden vaihtelun analysoinnissa eläinmallin avulla.

Tulosten perusteella osteokondroosimuutosten esiintymisessä on vaihtelua ja osa tästä vaihtelusta johtuu geneettisistä tekijöistä. Tämä tulee erityisesti esille nivelissä, joissa muutosten esiintymisfrekvenssi on suuri. Havaitusta geneettisestä vaihtelusta johtuen valinnalla voidaan siis vähentää muutosten esiintymistä, mutta se edellyttää jatkossa systemaattista hevosten röntgenkuvausta.

8.1 Aineisto

Tutkimuksen tuloksia tarkasteltaessa huomionarvoista on käytetyn aineiston koko ja kattavuus. Pienessä otoksessa geneettistä vaihtelua kuvaavien parametrien keskivirheet ovat suuria, ja ominaisuuksien välisten geneettisten korrelaatioiden arviointi on usein

mahdotonta (Falconer ja Mackay 1996). Useissa kansainvälisissä osteokondroosin geneettistä taustaa kartoittaneissa tutkimuksissa otoskoot ovat olleet alle tuhat hevosta (van Grevenhof ym. 2009), joten tähän tutkimukseen saatu otoskoko (1829) vaikuttaa riittävältä. Vuonna 1993 tehdyssä kotimaisessa osteokondroositutkimuksessa suomenhevosia oli 110. Sen kokoisesta aineistosta oli epävarmaa arvioida hyvin alhaisia esiintymisfrekvenssejä ja geneettinen analyysi ei tällöin ollut mahdollista (Pulkkinen 1993).

Nykypäivän suomenhevospopulaatio on kattavimmin edustettuna tähän tutkimukseen kuuluvassa uusimmassa aineistossa, joka sisältää vuosina 2009 – 2014 syntyneitä hevosia. Tämä tutkimusta varten kuvattu valikoitumaton ja hyvälaatuinen klinikka-aineisto osaltaan mahdollisti luotettavat tutkimustulokset. Lisäksi käytetty tutkimusaineisto sisältää tiedot jokaisesta vuoden 1987 jälkeen kuvatussa isäoriista. Näiden orien joukossa ovat myös ne valtaorit, joiden jälkeläismäärät ovat huomattavat. Tämä aineisto sisältää aikansa ja jalostussuuntansa parhaimmat oriit, joten aineiston valikoituneisuus on syytä huomioida. Suomen Hippos ry:stä saatu sukupuuaineisto oli lisäksi kokonaisuudessaan erinomainen ja olennainen osa perinnöllisen vaihtelun tarkastelua. Yhdistetyn aineiston tuloksia analysoitaessa on hyvä tiedostaa aineiston heterogeenisyys hevosten syntymävuoden osalta ja siitä mahdollisesti aiheutuvat ongelmat, kuten sukulaisuuksien erilaisuus eri vuosina syntyneiden hevosten välillä.

Tietoja analysoitaessa on siis otettava huomioon kuvattujen hevosten kokonaismäärän suhteellisen vähyden lisäksi aineiston kolme erilaista ryhmää ja näiden koot, hevosten valikoituneisuus ja geneettisen analyysin kannalta hyvin vaihteleva perherakenne (runsaasti pieniä jälkeläisryhmiä ja muutama hyvin suuri jälkeläisryhmä). Aiempiin tutkimustuloksiin vertaillessa on lisäksi otettava huomioon, että joissain ulkomaisissa tutkimuksissa periytyvyyttä ei ole laskettu nivel- ja rotukohtaisesti (van Grevenhof ym. 2009), mikä sairauden etiologian huomioon ottaen vaikuttaa saatuun heritabiliteettiin merkittävästi.

Käytössä olleen aineiston perherakenne voi aiheuttaa haasteita analyysiin. Jotta vaihtelun perinnöllisen taustan estimaatit ovat luotettavia, täytyisi eri isillä olla tasaisesti saman verran jälkeläisiä. Pienillä jälkeläisryhmillä havaittu vaihtelu voi perustua sattumaan. Jos muutosten esiintymisfrekvenssi on 1 %, ennakoita ajatellen tarvitaan keskimäärin 100 jälkeläistä, jotta yksi niistä olisi sairas. Kaikissa ryhmissä jälkeläiset

jakautuivat epätasaisesti eri oreille ja esimerkiksi yhdistetyssä aineistossa kuudella isäoriilla (kaikkiaan 467 oriista) sairaiden jälkeläisten osuus kuvatuista jälkeläisistä oli yli 40 %. Luku on populaation vaihtelun pohjan kannalta huolestuttava (Ettala 2015), mutta kertoo perinnöllisyyden lisäksi pienten jälkeläisryhmien aiheuttamasta sattuman vaikutuksesta tulokseen. Aineiston alhaisen koon lisäksi perherakenteen epätasaisuus näkyy estimaattien laajoina uskottavuusalueina eli perinteisten keskivirheiden suuruutena. Aineiston jälkeläisryhmien vaihtelu on siis haastava ja ainoastaan yleisimmissä vioissa saadaan luotettavia geneettisen vaihtelun estimaatteja isämallilla ja eläinmallilla analyysi on lähes mahdotonta.

Saadut nivelkohtaiset terveystiedot käsiteltiin kategorisena terve/sairas- ominaisuutena, eli muutoksen astetta ei kirjattu. Aineiston hankinnassa ennalta suunnittelemisella olisi välttytty erikokoisten jälkeläisryhmien aiheuttamilta ongelmilta. Näin on toimittu eräissä ulkomaalaisissa kasvuhäiriötutkimuksissa (van Grevenhof ym. 2009). Geneettisen vaihtelun ohella monet tekijät vaikuttavat sairauksien esiintymiseen, esimerkiksi sukupuoli, kuvannut klinikka, syntymävuosi, syntymäajankohta ja sukusiitosaste. Nämä eivät vaikuttaneet vaihteluun kuin muutamassa tapauksessa, mikä saattoi johtua havaintomäärän pienuudesta vaikutuksien esille nostamiseksi. Tutkimuksen puitteissa ei ollut mahdollista tutkia muiden ympäristötekijöiden osuutta sairauden ilmentymiseen. Aineistossa ei ollut tietoa esimerkiksi hevosten ensimmäisten vuosien ruokinta- ja liikuntamääristä. Tietoa ei ollut myöskään muutosten esiintymiseen mahdollisesti vaikuttavista varsojen koosta tai kasvunopeudesta.

Ongelman ja ristiriidan jalostuksen kannalta tilanteessa muodostaa se, että varhaista nopeutta pidetään esimerkiksi ravihevosjalostuksessa etuna, mutta toisaalta nopeasti kehittyvien hevosten riski saada kasvuhäiriöitä on suurempi.

8.2 Menetelmät

Aineiston geneettinen analysointi oli hankalaa muutosten hyvin alhaisen frekvenssin, tutkittujen hevosten lukumäärän ja epätasaisen perherakenteen takia (Falconer ja Mackay 1996). Geneettistä analyysia olisi helpottanut, jos muutosten lievyys tai vakavuus olisi eroteltu ja kirjattu esimerkiksi asteikolla 1-5. Tällöin vaihtelun tarkastelu

olisi voitu tehdä tavallisilla lineaarimalleilla myös eläinkohtaisessa analyysissä ja niin feno- kuin genotyypin vaihtelu olisi saatu tehokkaammin esille.

Kiinteiden tekijöiden analyysissä sukupuoli ja sukusiitosaste olivat tilastollisesti merkitseviä, kun taas siirryttäessä geneettisiin analyyseihin näiden merkitsevyys vaihteluun katosi. Vaikka sukusiitosasteella ei tässä tutkimuksessa ollut tilastollista merkitsevyyttä sairastumiseen, ei sen merkitystä tule jalostuksessa unohtaa. Sukusiitosasteen nousu ja populaation monimuotoisuuden väheneminen on syytä ottaa huomioon riskitekijöinä sairauden lisääntymiselle populaatiossa.

Osteokondroosimuutosten kuvaamisesta saadun luokitellun – terve/sairas – muuttujan geneettiseen analysointiin kokeiltiin ensin sekä perinteistä lineaarista analyysia muutoksia kuvaavalla asteikolla että epälineaarista analyysia taustalla olevan kynnysominaisuuden tapaan käyttäytyvän alttiuden tasolla. Molempiin sovellettiin sekä isä- että eläinmallia. Geneettinen vaihtelu saatiin näkyviin ja estimaatit olivat luotettavimpia lineaarisella isämallilla. Isämallilla ominaisuutta arvioitiin 0/1-asteikolla. Tuloksien yhteneväisyyttä tarkasteltiin eri aineistoilla ja isämallilla saaduille tuloksille haettiin vahvistusta myös käyttämällä eläinmallia vähemmän harvinaisten muutosten osalta. Näitä analysoitiin epälineaarisilla analyyseillä (alttius kynnysominaisuutena). Eläinmallilla analysoitaessa parametrien uskottavuusalueet olivat kapeampia ja eläin- ja isämallin avulla saadut tulokset vahvistivat toisiaan. Isämallin tulokset olivat parhaiten verrattavissa muissa tutkimuksissa (mm. Lykkjen ym. 2014) saatuihin tuloksiin.

8.3 Tulokset

Osteokondroosia esiintyy useilla eri hevosroduilla. Ainoassa kylmäveriroduulla tehdyssä osteokondroositutkimuksessa sairautta esiintyi jopa 60 %:lla tutkituista Pohjois-Saksan kylmäverihevosista. Näinkin korkeasta esiintymisfrekvenssistä huolimatta oletetaan, että poneilla ja kylmäverisillä hevosilla sairaus on lämminverisiä ratsuja ja ravureita sekä täysiverisiä hevosia harvinaisempaa (Distl 2013 ja Wittwer 2006). Osteokondroosin esiintyvyys lämminveriroduilla on eri tutkimusten perusteella ollut noin 25 – 30 % (van Weeren ja Jeffcott 2013). Kansainvälisissä tutkimuksissa saatujen tulosten tulkinnassa on huomioitava, se että tutkimukset poikkeavat toisistaan

osteokondroosin määrittely, nivelotannan ja -jaottelun sekä tutkittujen hevosten rodun osalta. (Lykkjen ym. 2014).

Suomenhevosten kasvuhäiriöstä ei ole tehty aiemmin näin laajaa tutkimusta. Hevosihmisten käytännön kokemukseen perustuvat arviot sairastuneiden osuudesta ovat olleet viiden prosentin suuruisia. Virpi Pulkkinen tutki osteokondroosin esiintyvyyttä suomenhevosilla osana omaa pro gradu -työtään vuonna 1993, jolloin sairauden esiintyvyys tutkituilla hevosilla oli 1,27 %. Tästä syystä erityisesti Ryhmän 1 tulos muutoksia omaavien hevosten osuudesta (16,9 %) oli huolestuttavan korkea. Jalostusvalinta ja eri hevosurheilulajien suosima varsan nopea kasvu mahdollisesti lisäävät alttiutta osteokondroosimuutoksille. Nopean kasvutahdin vaikutus osteokondroosialttiuteen on todettu Pohjois-Saksan kylmäverisillä (Wittwer 2006), joten tämä on huomioitava myös suomenhevosten osalta.

Ryhmän 2 frekvenssit olivat erilaisia kuin ryhmässä 1. Ryhmän 2 hevoset (kantakirjaukseen tarjotut oriit) olivat vahvasti valikoitunut populaatio, joka sisälsi ainoastaan aikansa ja lajiensa parhaita yksilöitä. Tässä ryhmässä muutosten esiintymisfrekvenssi oli 10,2 %. On myös tärkeää huomioida hevoset, joilla muutoksia oli useammassa kuin yhdessä nivelessä. Näitä tutkittuja hevosia oli 2,6 % Ryhmässä 1. Useampia muutoksia omaavien hevosten osuus sairaista hevosista oli 15,3 % Ryhmässä 1 ja Ryhmässä 2 jopa 27,5.

Nivelkohtaisesti korkeimmat esiintymisfrekvenssit olivat Ryhmän 1 kintereen muutoksilla (5,2 %). Huomattava frekvenssi oli myös vuohisen etupinnan muutoksilla etujalkojen (2,5 %) ja takajalkojen osalta (2,1 %) sekä takajalkojen Birkeland-muutoksilla (3,8 %). Huomioitavaa on lisäksi takapolvien alhainen frekvenssi (1,07). Yhdistetyn aineiston osalta tulokset olivat yhteneväiset. Vuohisten etupintojen muutosten osalta frekvenssijakauma oli selkeä. Vuohisluusta peräisin olevia muutoksia oli enemmän kuin sääriluusta peräisin olevia muutoksia, joilla on arvioitu olevan korkeampi heritabiliteetti kuin aiemmin mainituilla. Ryhmässä 1 etu- ja takajalkojen sääriluusta lähtöisin olevien muutosten frekvenssi oli molemmilla 1,1 %. Sairauden taustalla olevaa geneettistä osuutta tukevat lisäksi tulokset selvistä fenotyypisistä korrelaatioista eri puolten välillä, joista takapolven tulos oli korkein (0,59).

Sairauden heritabiliteetti vaihtelee eri roduilla. On kuitenkin tärkeää huomata, että heritabiliteettiarvoissa on sekä nivel- että rotukohtaista vaihtelua (van Weeren ja Jeffcott 2013). Tutkimuksessa saadut heritabiliteettiestimaatit olivat sairausominaisuuden tapaan melko matalia. Korkeimmat arviot olivat Ryhmässä 1 isämällä 1/0-asteikolla analysoitaen etujalkojen kavionivelillä uskottavuusalueella 0,12-0,55 ja takapolvilla 0,09-0,54. Samaa mallia hyödyntäen korkeimmat tulokset yhdistetyssä aineistossa olivat jälleen etujalkojen kavionivelillä (0,15-0,52), etujalkojen Birkeland-muutoksilla (0,14-0,44) ja takapolvilla (0,06-0,30). Vuohisenetupinnan muutosten osalta heritabiliteetit olivat korkeammat sääriluusta lähtöisin olevavilla muutoksilla. Esimerkiksi takajalkojen vuohisen etupinnan muutoksissa vuohisluusta lähtöisin olevien muutosten heritabiliteetti oli 0,03-0,024, kun taas sääriluusta peräisin olevilla muutoksilla arvio oli 0,08-0,41.

Etujalkojen kavionivelen muutosten sekä sääriluusta lähtöisin olevien vuohisen etupinnan muutosten ja etujalkojen Birkeland-muutosten heritabiliteettiarvioiden tulkinnassa on otettava huomioon kyseisten nivelmuutosten alhainen esiintymisfrekvenssi.

Kintereen heritabiliteetti oli korkeampi (0,58) käytettäessä eläinmallia alttiusasteikolla kuin käytettäessä isämällä sairausasteikolla (0,16). Jälkimmäinen on alttiusasteikolla kuitenkin ensimmäisen kaltainen. Havainto saa tukea aiemmista tutkimuksista (Lewczuk ja Korwin-Kossakowska 2012). Eläinmalli pureutuu alttiuden vaihtelun analysointiin eli saa selville sairastumisen riskin arvon myös sukulaiseläimille, joilla muutoksia ei ole havaittu. Eri menetelmien tulokset siis vahvistavat toisiaan. Samoin edustavimmasta Ryhmä 1:stä saadut tulokset saivat vahvistuksen yhdistetystä aineistosta. Kintereelle saadut korkeat alttiuden heritabiliteettiarvot noudattavat kansainvälisistä tutkimuksista saatuja tuloksia (Hilla ja Distl 2014; Lykkjen ym. 2014).

Kokonaisuutena heritabiliteettiarvojen tulkinnassa on huomioitavaa se, että usean nivelen heritabiliteetin estimaatissa oli huomattava uskottavuusalue, mikä tarkoittaa sitä, ettei periytymisasteesta kannata esittää pistearvioita. Oleellisinta on, että uskottavuusalue on nollan yläpuolella, ja näin ollen taustalla on perinnöllistä vaihtelua.

Kylmäveristen osalta on lisäksi syytä muistaa, että Ruotsissa ja Norjassa kylmäveristä ravihevosta ei hyväksytä lainkaan jalostukseen, jos sillä havaitaan

osteokondroosimuutos tai -muutoksia nivelissä (Svensk Travsport 2016). Suomi haluaa tässä kohti säilyttää isomman päätösvallan tammanomistajan hallussa hyväksymällä muutoksia omaavan oriin jalostukseen, jos sen suoritukset riittävät I-palkinnolla palkitsemiseen jalostusarvostelussa (Suomen Hippos ry, jalostusohjesääntö 2015).

Kootusti voidaan todeta, että vertailemalla eri vuosikymmeniltä saatuja havaintoaineistoja sairauden esiintyminen on nousussa, joskin on huomioitava, ettei tällaisia analyysimenetelmiä ole käytetty aiemmin. Karkeasta kaksiluokkaisesta asteikosta huolimatta saadut tulokset ovat käyttökelpoisia. Hienosyisemmällä asteikolla havainnot olisivat tuoneet esille eläinmallin tehokkuuden aineiston vaihtelun analysoinnissa, samoin suurempi havaintojen lukumäärä.

Lämminverisillä muutosten esille tulo on lisääntynyt vuosikymmenien aikana (Lewczuk ja Korwin-Kossakowska 2012) ja suomenhevosilla tilanne vaikuttaa samankaltaiselta. Tutkituilla roduilla on havaittu muutosten vaihtelussa perinnöllinen osa (Distl 2013), minkä hyödyntämisen avulla muutoksia voidaan valinnalla vähentää (van Grevenhof ym. 2009). Tämän tutkimuksen kautta saadut heritabiliteettien arviot osoittavat, että valinta osteokondroosia vastaan on kannattavaa myös suomenhevosilla.

9 JOHTOPÄÄTÖKSET

Tutkimuksen tarkoituksena oli kartoittaa osteokondroosiin esiintymistä ja periytyvyyttä suomenhevospopulaatiossa. Tiivistetysti voidaan todeta, että osteokondroosimuutosten esiintyvyys on suomenhevosilla oletettua laajempaa. Tulevaisuuden kannalta huolestuttavaksi tilanteen tekee se, että esiintyvyys on selkeästi yleisintä ryhmässä 1, eli viimeksi syntyneillä suomenhevosilla.

Osteokondroosi on hankala sairaus geneettisen analyysin kannalta. Luotettavampien analyysien kannalta olisi parempi, jos sairaus jaoteltaisiin vakavuuden mukaan useampaan eri luokkaan. Tällöin aineiston ja tutkittavan sairauden tyypilliset erittäin matalat nivelkohtaiset frekvenssit eivät muodostuisi ongelmaksi. Tutkimuksen suunnitteluvaiheessa tulisi ottaa huomioon myös jälkeläisryhmien vaikutus myöhempään analyysiin ja pyrittävä eri keinoin tasakokoisempien jälkeläisryhmien muodostamiseen.

Sairauden alhaisen frekvenssin vuoksi tutkimuksessa pyrittiin tarkastelemaan alttiutta ja otettiin huomioon sukulaisuudet. Käytännössä tämä tarkoittaa sitä, että jälkeläisten lisäksi huomioitiin myös emät ja sisarukset. Liian haasteelliseksi osoittautuneen eläimallianalyysin jälkeen siirryttiin analysoimaan isämallilla, jolla saatiin perinnöllinen vaihtelu esille.

Tässä tutkimuksessa 1/0-asteikolla mitattujen havaintojen ja taustalla olevan alttiuden analyysien tulokset tukevat toisiaan. Nivelmuutoksissa on geneettistä vaihtelua, eli jalostusvalinnoilla pystytään vähentämään osteokondroosin esiintymistä tulevaisuudessa. Tärkeää on, että aineistoa kerätään systemaattisesti edelleen. Olennaisinta tässä on, että varsoja kasvukuvataan edelleen ja huomioidaan se, että oireettomat hevoset jäävät edelleen usein kuvaamatta. Kuvausaineiston tehokas hyödyntäminen, analysointi ja tutkimus vaatisivat koordinoitun tietojen säilytyksen.

Korkeat heritabiliteettiestimaatit antavat viitteitä siitä, että jos muutoksia omaavan orin käyttöön ei kiinnitetä huomiota, tulee osteokondroosimuutosten frekvenssi nousemaan populaatiossa. Osteokondroosin vastustamisessa olennaisinta on siis vakava suhtautuminen yksittäisten nivelten muutoksiin, ei niinkään sairauten ylipäänsä. Tässä tutkimuksessa saadut heritabiliteettien arviot vahvistavat käsitystä siitä, että kintereen ja takapolven muutokset ovat yleisimpiä ja niihin voisi puuttua kriittisemmin kuin muiden nivelten muutoksiin. Huomattavat heritabiliteettiestimaatit etujalkojen kavionivelten ja sääriluusta lähtöisin olevilla vuohisen etupinnan osteokondroosimuutoksilla viittaavat siihen, että myös näiden nivelten muutoksiin tulisi suhtautua erityisen vakavasti.

Osteokondroosimuutoksia esiintyy suomenhevospopulaatiossa siis enemmän kuin olemme olettaneet, mutta havaitun geneettisen vaihtelun vuoksi vaikuttaminen jalostusvalinnoilla on mahdollista.

10 KIITOKSET

Haluan kiittää Suomen Hippos ry:tä ja Erkki Rajakosken rahastoa mahdollisuudesta tutkia suomenhevosten osteokondroosia. Haluan kiittää myös työni ohjaajana toiminutta Asko Mäki-Tanilaa korvaamattomasta avusta haastavien analyysien parissa sekä Ismo

Strandenia asiantuntijakommenteista. Kiitokset myös kaikille läheisilleni, jotka jaksoivat olla kiinnostuneita suomenhevosten kasvuhäiriöistä ja tutkimuksen etenemisestä sekä kannustivat eteenpäin.

LÄHTEET

Denoix, J., L.B. Jeffcott, C.W. McIlwraith ja P.R. van Weeren. 2013. A review of terminology for equine juvenile osteochondral conditions (JOCC) based on anatomical and functional considerations. *Vet. J.* 197:29-35.

Distl, O. 2013. The genetics of equine osteochondrosis. *Vet. J.* 197:13-18.

Ettala, A. 2015. Suomenhevosen geneettisen vaihtelun arviointi sukupuutiedoista.

Kotieläintieteen pro gradu – tutkielma. Helsingin yliopisto, maataloustieteen laitos.

Falconer, D. S. ja T. F. C. Mackay, 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*, Ed 4.

Longmans Green, Harlow, Essex, UK.

Finney, D.J. 1964. *Statistical methods in biological assay*, 668 s. London.

Gianola, D. 1982. Theory and analysis of threshold character. *J. Anim. Sci.* 54: 1079-1096.

Hadfield, J.D. 2010. MCMCglmm course notes.

<https://cran.r-project.org/web/packages/MCMCglmm/vignettes/CourseNotes.pdf>.

Viitattu 27.9.2016.

Hilla, D. ja O. Distl. 2014. Heritabilities and genetic correlations between fetlock, hock and stifle osteochondrosis and fetlock osteochondral fragments in Hanoverian warmblood horses. *J. Anim. Breed. Gen.* 131:71-81.

- Lewczuk, D. ja A. Korwin-Kossakowska. 2012. Genetic background of osteochondrosis in the horse - a review. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 30:205-218.
- Lykkjen, S., H.F. Olsen, N.I. Dolvik, A.M. Grøndahl, K.H. Røed ja G. Klemetsdal. 2014. Heritability estimates of tarsocrural osteochondrosis and palmar/plantar first phalanx osteochondral fragments in standardbred trotters. *Equine Vet. J.* 46:32-37.
- Olstad, K., S. Ekman ja C.S. Carlson. 2015. An update on the pathogenesis of osteochondrosis. *Vet. Pathol.* 52:785-802.
- Orr, N., E.W. Hill, J. Gu, P. Govindarajan, J. Conroy, E.M. Van Grevenhof, B.J. Ducro, J.A.M. Van Arendonk, J.H. Knaap, P.R. Van Weeren, D.E. Machugh, S. Ennis ja P.A.J. Brama. 2013. Genome-wide association study of osteochondrosis in the tarsocrural joint of dutch warmblood horses identifies susceptibility loci on chromosomes 3 and 10. *Anim. Genet.* 44:408-412.
- Pulkkinen, V. 1993. Ravihevosten kinner- ja vuohisnivelten irtopalojen periytyvyys ja yhteydet kilpailutuloksiin. Kotieläintieteen pro gradu – tutkielma. Helsingin yliopisto, maataloustieteen laitos. 56 s.9.
- Robert, C., J.-. Valette, S. Jacquet, J. Lepeule ja J.-. Denoix. 2013. Study design for the investigation of likely aetiological factors of juvenile osteochondral conditions (JOCC) in foals and yearlings. *Vet. J.* 197:36-43.
- Robertson, A ja Lerner, I.M. 1949. The Heritability of All-or-None Traits: Viability of Poultry. *Genetics* 34: 395-411.
- R Studio 2015. <https://www.rstudio.com/>. Viitattu 14.7.2015.

Sorensen, D.A. ja D. Gianola. 2002. Likelihood, Bayesian, and MCMC Methods in Quantitative Genetics. 699 s, Springer.

Suomenhevosliitto ry 2016. Tietoa suomenhevosesta.

<http://suomenhevosliitto.fi/suomenhevonen/tietoa-suomenhevosesta/>. Viitattu 11.2.2016.

Suomen Hippos ry 2016. Suomenhevosen käyttömuodot.

http://www.hippos.fi/jalostus_ja_nayttelyt/yleista_jalostuksesta/kantakirjarodut/suomenhevonen/kayttomuodot. Viitattu 5.11.2015.

Suomen Hippos ry. Suomenhevosen historia.

http://www.hippos.fi/jalostus_ja_nayttelyt/yleista_jalostuksesta/kantakirjarodut/suomenhevonen/historia. Viitattu 5.11.2015.

Suomen Hippos ry 2016. Jalostushevosten rakenne- ja terveysvaatimukset.

http://www.hippos.fi/files/2878/JALOSTUSHEVOSTEN_RAKENNE-JA_TERVEYSVAATIMUKSET_2012.pdf. Julkaistu 2011, viitattu 11.4.2016.

Suomen Hippos ry 2016. Suomenhevosen jalostusohjesääntö, liite 2.

http://www.hippos.fi/files/14056/Rakenne_ja_terveysvaatimukset151215.pdf.
Julkaistu 2015, viitattu 11.4.2016.

Svensk Travsport 2016. Avelsvärdering av kallblodiga hingstar.

https://www.travsport.se/artikel/avelsvardering_av_kallblod. Julkaistu 2014,
viitattu 17.8.2016.

Van Grevenhof, E.M., B.J. Ducro, P.R. Van Weeren, J.M.F.M. Van Tartwijk, A.J. Van

Den Belt ja P. Bijma. 2009. Prevalence of various radiographic manifestations of

osteocondrosis and their correlations between and within joints in dutch warmblood horses. *Equine Vet. J.* 41:11-16.

van Grevenhof, E.M., A. Schurink, B.J. Ducro, P.R. van Weeren, J.M. van Tartwijk, P. Bijma ja J.A. van Arendonk. 2009. Genetic variables of various manifestations of osteocondrosis and their correlations between and within joints in dutch warmblood horses. *J. Anim. Sci.* 87:1906-1912.

van Weeren, P.R. ja L.B. Jeffcott. 2013. Problems and pointers in osteocondrosis: Twenty years on. *Vet. J.* 197:96-102.

Wittwer, C., H. Hamann, E. Rosenberger and O. Distl. 2006. Prevalence of osteocondrosis in the limb joints of south german coldblood horses. *J. Vet. Med. Ser. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 53:531-539.

Ytrehus, B., C.S. Carlson ja S. Ekman. 2007. Etiology and pathogenesis of osteocondrosis. *Vet. Pathol.* 44:429-448.