

# Ein Fall von 63,X/64,XX Mosaizismus bei einer subfertilen Ponystute

A. Pieńkowska-Schelling<sup>1</sup>, J. Handler<sup>2</sup>, S. Neuhauser<sup>2</sup>, C. Schelling<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institut für Genetik, Vetsuisse-Fakultät Bern, Universität Bern, <sup>2</sup>Pferdezentrum Bad Saarow, Klinik für Pferde, Freie Universität Berlin, <sup>3</sup>Klinik für Reproduktionsmedizin und Zentrum für klinische Studien, Vetsuisse-Fakultät Zürich, Universität Zürich

DOI 10.17236/sat00059

Eingereicht: 17.12.2015  
Angenommen: 14.01.2016

## Zusammenfassung

Der vorliegende Fallbericht beschreibt eine 6 Jahre alte subfertile Stute der Rasse Ponystute, die erst nach der elften künstlichen Besamung tragend wurde. Die klinische Untersuchung der Ovarien und des Uterus waren ohne besonderen Befund und die Stute zeigte einen regelmässigen Zyklus. Aufgrund von zytogenetischen und molekulargenetischen Untersuchungen wurde es möglich, eine plausible Ursache für die Subfertilität zu ermitteln. Der Karyotyp der Ponystute setzte sich aus zwei Zelllinien zusammen: In 20% der Zellen wurde eine Monosomie X nachgewiesen (63,X) und in 80% der Zellen war der Karyotyp normal (64,XX). Eine PCR-Analyse für den Nachweis von Sequenzen des equinen *SRY* Gen war negativ. Es handelte sich also um einen klassischen Fall einer mosaiken Form von Monosomie X, die eine offensichtliche Erklärung für die Subfertilität der Stute liefert.

**Schlüsselwörter:** Pferd, reduzierte Fruchtbarkeit, chromosomales Mosaik, *SRY* negativ, 63,X/64,XX

## A case of 63,X/64,XX mosaicism in a subfertile pony mare

The present case report describes a 6-year old subfertile pony mare, which became pregnant after the eleventh artificial insemination. The examination of the ovaries and the uterus did not reveal any abnormal clinical findings and the mare showed a regular oestrous cycle. Based on cytogenetic and molecular genetic analyses it became possible to elucidate the observed subfertility. The mosaic karyotype of the mare consisted of 63,X (20%) and 64,XX (80%) cells. A PCR analysis failed to amplify sequences from the equine *SRY* gene. The observed classic 63,X/64,XX mosaicism is a plausible explanation for the subfertility of the mare.

**Keywords:** horse, subfertility, chromosomal mosaic, *SRY* negative, 63,X/64,XX

## Einleitung

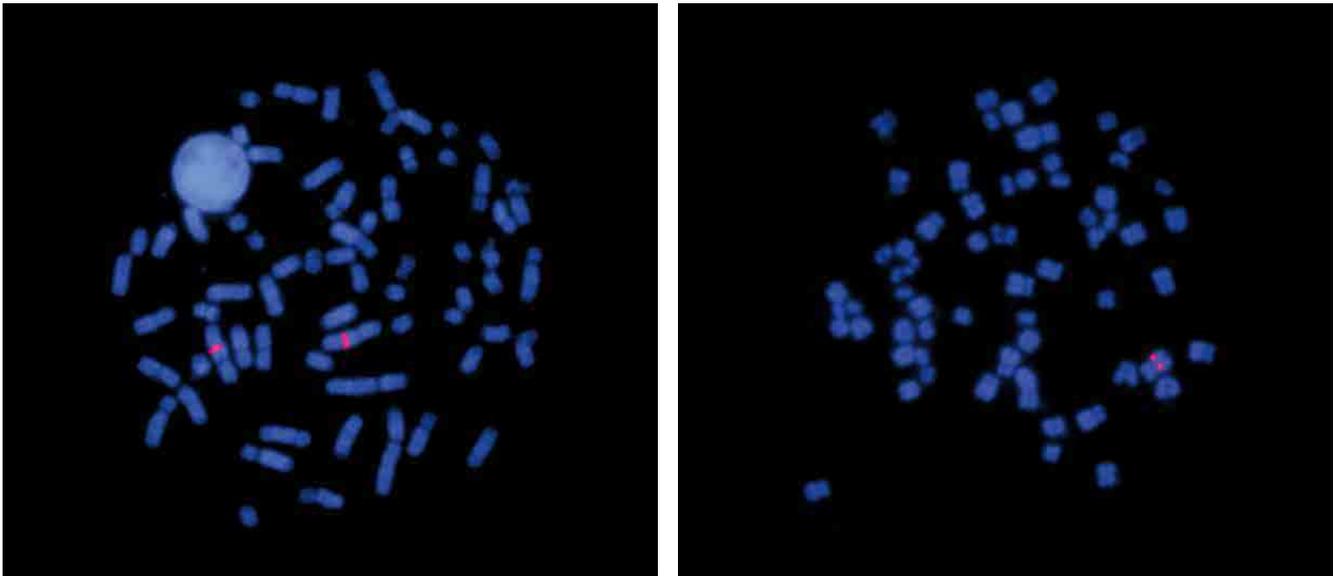
Eine gute Fruchtbarkeit von Zuchttieren ist eine wichtige Voraussetzung, um Haustierpopulationen zu erhalten und genetisch zu verbessern. Neben vielen anderen Faktoren können numerische und strukturelle Veränderungen der Chromosomen die Fruchtbarkeit negativ beeinflussen (Lear und Bailey, 2008). Allerdings gibt es nur wenige neuere Untersuchungen, welche die Häufigkeit solcher Störungen bei Pferden oder Ponys dokumentieren. Bugno und Mitarbeiter (2007) fanden in einer zufälligen Stichprobe von 500 polnischen Pferden (228 Hengste/Wallache und 272 Stuten) in 2% der untersuchten Tiere eine chromosomale Aberration, wobei alle betroffenen Individuen Stuten (3.7%) waren. Für die Schweiz oder Deutschland gibt es keine vergleichbaren Untersuchungen. Obwohl auf den ersten Blick die Prä-

valenz von chromosomalen Veränderungen klein erscheint, ist für die Besitzer einer subfertilen Stute eine umfassende Untersuchung für eine bestmögliche, objektive prognostische Beurteilung der Fruchtbarkeit von großer Bedeutung. Dafür müssen neben Anamnese und Befunden der klinischen und gynäkologischen Untersuchung auch Resultate der zytogenetischen und molekulargenetischen Analysen verfügbar sein (Halnan, 1985).

## Fallbeschreibung

### Anamnese

Eine im Jahr 2009 geborene Ponystute mit einem äußerlich normalen, weiblichen Erscheinungsbild wurde in den Jahren 2013, 2014 und 2015 insgesamt zehn Mal ohne Erfolg künstlich besamt. Sie zeigte immer ein



**Abbildung 1:** Zwei Metaphasen der Ponystute nach Fluoreszenz *in-situ* Hybridisierung. Die Hybridisierungssignale identifizieren die X Chromosomen: Links die normale Zelllinie mit dem normalen Karyotyp (64,XX) und rechts die Zelllinie mit der Monosomie X (63,X).

deutlich ausgeprägtes Rosseverhalten in einem regelmäßigen Zyklusverlauf, und sowohl in der klinischen, gynäkologischen als auch in der ultrasonografischen Untersuchung war der Genitaltrakt unauffällig. Die elfte Besamung war erfolgreich und am 11. November 2015 war die Stute 112 Tage tragend. Heparin- und EDTA-Blutproben wurden gewonnen, um mit Hilfe einer Chromosomen- und DNA-Analyse die Ursache der nachgewiesenen Subfertilität abzuklären.

### Zytogenetische und molekulargenetische Untersuchung

Die Kultivierung der Lymphozyten und die Präparation der Chromosomen ist in Pieńkowska-Schelling et al. (2014) beschrieben. Die Chromosomen wurden mit einer Giemsa-Lösung angefärbt und einer CBG-Bänderung unterzogen, um numerische Aberrationen bzw. die Geschlechtschromosomen X und Y zu identifizieren. Nach der Auszählung von mehr als 100 Metaphasen stand fest, dass die Ponystute ein chromosomales Mosaik ist. Die Fluoreszenz *in-situ* Hybridisierung (FISH) mit einem Sondenngemisch des equinen Y-Chromosoms erlaubt die rasche und sichere Detektion der beiden Geschlechtschromosomen (Pieńkowska-Schelling et al., 2006) und bestätigte das Vorliegen des Mosaiks 63,X/64,XX mit 20% bzw. 80% der Zellen (Abb. 1). Mit Hilfe einer PCR-Analyse (Han et al., 2010) konnten keine DNA-Sequenzen des equinen SRY Gen im Genom der Ponystute nachgewiesen werden.

### Diskussion

Obwohl in den letzten Jahren große Fortschritte in der Aufklärung von Störungen der Geschlechtsentwicklung

gemacht wurden, bleiben noch immer viele Fragen offen (Ono und Harley, 2013). Neben dem männlich zu weiblich 64,XY Geschlechtsumkehr-Syndrom (Power, 1986; Fang, 2011; Peer et al., 2012; Pieńkowska-Schelling et al., 2014) gehören die reine Monosomie X (63,X) und Mosaiken davon (63,X/64,XX) zu den häufigsten zytogenetischen Diagnosen, die für in- bzw. subfertile weibliche Pferde gestellt werden (Lear und Bailey, 2008). Während beim Vorliegen einer reinen Monosomie des X Chromosoms die Fruchtbarkeit aufgrund der Dysgenese der Gonaden praktisch ausgeschlossen wird (Power, 1990), sind Stuten mit der mosaiken Form im besten Fall subfertil (Halnan, 1985). Eine Vorhersage der Fruchtbarkeit von Mosaiken ist schwieriger, weil sie nicht immer mit einem einheitlichen klinischen Phänotyp einhergehen. Außerdem ist die prognostische Aussagekraft des nachgewiesenen Verhältnisses von 64,XX zu 63,X Lymphozyten im peripheren Blut noch nicht genau geklärt. Die Publikation gut dokumentierter Fälle ist deshalb von ausgesprochener Bedeutung. Der vorliegende Fall beschreibt einen klassischen 63,X/64,XX Mosaizismus bei einer Ponystute und unterstreicht die Wichtigkeit von zytogenetischen und molekulargenetischen Untersuchungen für die individuelle Beurteilung der Fruchtbarkeit bei Pferden und Ponys.

### Dank

Ein Teil der Laborarbeiten wurde im Zentrum für klinische Studien der Vetsuisse-Fakultät Zürich durchgeführt.

Ein Fall von 63,X/64,XX  
Mosaizismus bei einer  
subfertilen Ponystute

A. Pieńkowska-Schelling  
et al.

## Literatur

*Bugno M., Słota E., Kościelny M.:* Karyotype evaluation among young horse populations in Poland. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 2007, 149: 227–232.

*Fang E.:* Molecular studies in horses with SRY-positive XY sex reversal. Master Thesis, Texas A&M University, 2011.

*Halnan C. R. E.:* Sex chromosome mosaicism and infertility in mares. *Vet. Rec.* 1985, 116: 542–543.

*Han S. H., Yang B. C., Ko M. S., Oh H. S., Lee S. S.:* Length difference between equine ZFX and ZFY genes and its application for molecular sex determination. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2010, 27: 725–728.

*Lear T. L., Bailey E.:* Equine clinical cytogenetics: the past and future. *Cytogenet. Genome Res.* 2008, 120: 42–49.

*Ono M., Harley V. R.:* Disorders of sex development: new genes, new concepts. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2013, 9: 79–91.

*Peer M., Neuhauser S., Klaus C., Kuiper H., Gruber A. D., Distl O., Lischer C., Handler J.:* Laparoscopic gonadectomy in two intersex Warmblood horses. *J. Equine Vet. Sci.* 2012, 32: 117–122.

*Pieńkowska-Schelling A., Bugno M., Owczarek-Lipska M., Schelling C., Słota E.:* Probe generated by Y chromosome microdissection is useful for analysing the sex chromosomes of the domestic horse. *J. Anim. Feed Sci.* 2006, 15: 173–178.

*Pieńkowska-Schelling A., Becker D., Bracher V., Pineroli B., Schelling C.:* Zytogenetische und molekulargenetische Abklärungen bei einem Pferd mit SRY-negativer Sex-Umkehr. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 2014, 156: 341–344.

*Power M. M.:* XY sex reversal in a mare. *Equine Vet. J.* 1986, 18: 233–236.

*Power M. M.:* Chromosomes of the horse. In: *Advances in veterinary science and comparative medicine*, Hrsg. R.A. McFeely, Academic Press, San Diego, 1990, 131–167.

## Korrespondenz

Dr. Claude Schelling  
Klinik für Reproduktionsmedizin  
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich  
Winterthurerstrasse 260  
8057 Zürich  
Tel. ++41 (0)44 635 91 01  
Fax ++41 (0)44 635 89 38  
E-Mail: cschelling@vetclinics.uzh.ch