

Nowy przypadek trisomii XXY u buhaja

WIESŁAW KRUMRYCH

Pracownia Biotechniki Rozrodu Zwierząt Bydgoskiego Oddziału Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Krumrych W.

A new case of XXY trisomy in a bull

Summary

During the course of routine cytogenetical studies of males a rare case of pure line XXY-trisomy has been determined in one of the young bulls. Against the background of bulls with normal karyotype (60,XY), testimetrical examinations demonstrated a significantly smaller size of the scrotum and both testicles in the examined bull. The endocrinological activity of the gonads was determined using a hormonal stimulation test. Although the bull had a relatively high testosterone concentration in his blood, the administration of exogenous GnRH did not result in testicle reaction (i.e. a release of higher amounts of the hormone) which suggests testicle dysfunction. The studies will be continued as the bull matures, eventually taking into account the semen quality, FSH, LH and progesterone determination, as well as histological examinations.

Keywords: XYY-trisomy, testimetrical examinations, hormonal stimulation

Wprowadzenie w Polsce (1989 r.) obowiązku oceny prawidłowości kariotypu buhajów kierowanych do rozrodu pozwoliło na wykrycie, a co za tym idzie, na eliminację z użytkowania rozplodowego do 1996 r. około 1,3% osobników, nosicieli defektów chromosomowych (18). Stwierdzono, że najczęściej występującymi nieprawidłowościami kariotypu u bydła są: chimerizm leukocytarny (60,XX/60,XY) oraz defekty strukturalne, np. translokacja Robertsona 1;29 (10, 15, 17, 21, 24, 25). Aberracje w zakresie liczby chromosomów są wadami stosunkowo rzadko stwierdzanymi u tego gatunku. Zazwyczaj występują one w postaci trisomii chromosomów płciowych, co skutkuje niedorozwojem narządów płciowych oraz upośledza ich funkcję. Jedną z postaci tego rodzaju defektów jest trisomia 61,XXY, stanowiąca odpowiednik zespołu Klinefeltera u człowieka. Przyjmuje się, że aberracja ta występuje u bydła z mniejszą częstotliwością niż u ludzi, u których pojawia się raz na 500 urodzonych chłopców (4). W Polsce zarejestrowano dotąd zaledwie kilka przypadków nosicielstwa tej wady u bydła (5, 20, 21, 23, 24). Nosiciele charakteryzują się fenotypem męskim i z reguły są nieplodni. Przypuszcza się, że czynnikiem sprawczym jest dodatkowy chromosom płciowy X, który zawiera geny odpowiedzialne za procesy inaktywujące rozwój jąder i spermatogenezę (12).

W opracowaniu przedstawiono przypadek nosicielstwa trisomii XXY w linii czystej u młodego buhaja. Przyżyciowo scharakteryzowano budowę anatomiczną zewnętrznych narządów płciowych nosiciela oraz oceniono funkcję wewnątrzwydzielniczą jąder w po-

równaniu z kariotypowo prawidłowymi (60,XY) rówieśnikami.

Materiał i metody

W ramach rutynowo prowadzonych badań cytogenetycznych samców, w jednym z Ośrodków Hodowli Zwierząt woj. pomorskiego, ocenie kariotypu poddano 10-miesięcznego buhaja (Coler, nr 72727) rasy holsztyńsko-fryzyskiej (ryc. 1). Rodzicami pochodzącego z transferu zarodka i urodzonego w normalnym terminie osobnika były zwierzęta pochodzące z USA: ojciec – Convincer (nr lic. 93534) i matka – Malachis Best (nr lic. 15283535). Buhaj o masie ciała wynoszącej 296 kg charakteryzował się żywym temperamentem. Analiza genomu w kierunku obecności mutacji BLAD i DUMPS wykluczyła nosicielstwo obu wad genetycznych u badanego osobnika.



Ryc. 1. Buhaj Coler rasy Holstein-Friesian (61,XXY)

Badanie cytogenetyczne przeprowadzono w oparciu o sterylnie pobraną krew z żyły szyjnej zewnętrznej do heparynizowanej probówki podciśnieniowej (Vacutainer). Hodowlę limfocytów krwi obwodowej w płynie Eagle'a przeprowadzono według ogólnie przyjętych zasad (22). Sporządzone preparaty barwiono roztworem Giemsy, przy czym część z nich poddano barwieniu różnicującemu GTG (z użyciem trypsyny). Analizę kariotypu przeprowadzono bezpośrednio pod mikroskopem w oparciu o ocenę około 200 kompletnych płytek metafazowych. Wybrane płytki fotografowano, a następnie identyfikowano poszczególne chromosomy przy pomocy obowiązującego wzorca układu prążków G (8). W celu potwierdzenia uzyskanego wyniku, po upływie około 2 tygodni powtórnie pobrano od buhaja krew, poddając ją ocenie cytogenetycznej.

U badanego buhaja przeprowadzono ponadto szczegółową ocenę testometryczną. Polegała ona na tradycyjnym pomiarze obwodu worka mosznowego przy użyciu taśmy metrycznej oraz długości, szerokości i grubości obu jąder za pomocą cyrkla kabłąkowego. Dodatkowo, pomiary średnicy jąder (przekrój poprzeczny) wykonano przy użyciu aparatu ultrasonograficznego wyposażonego w głowicę liniową o emisji 5 MHz. Wyznaczono ją, mierząc odległość pomiędzy widocznymi na obrazie ultrasonografu osłonkami (*tunica albuginea*). Ze względu na ograniczony zakres pracy głowicy, pomiar długości jąder nie był możliwy przy użyciu techniki USG.

Wewnątrzwydzielniczą aktywność jąder buhaja oszacowano za pomocą testu stymulacji hormonalnej. W tym celu domięśniowo podano buhajowi gonadotropinę (GnRH) w postaci preparatu Depherelin firmy Veyx – Pharma GmbH, którego substancją czynną jest D-Phe⁶-LHRH w ilości 50 µg/ml. Dawkę ustalono według masy ciała zwierzęcia w ilości 0,2 ml na każde 50 kg masy, co odpowiadało 10 µg D-Phe⁶-LHRH. Krew obwodową pobierano z żyły szyjnej zewnętrznej do heparynizowanych probówek 3-krotnie w odstępach półgodzinnych przed podaniem GnRH, a następnie po upływie 1 i 2 godzin. W odwirowanym osoczu krwi oznaczono zawartość testosteronu metodą immunoenzymatyczną przy użyciu aparatu EPOLL-20.

Wyniki pomiarów jąder oraz stężenia testosteronu u badanego buhaja zestawiono ze średnimi wartościami powyższych wskaźników u 10 sztuk 10-miesięcznych buhajów rasy hf o prawidłowym kariotypie (60,XY) z kilku Ośrodków Hodowli Zwierząt w kraju.

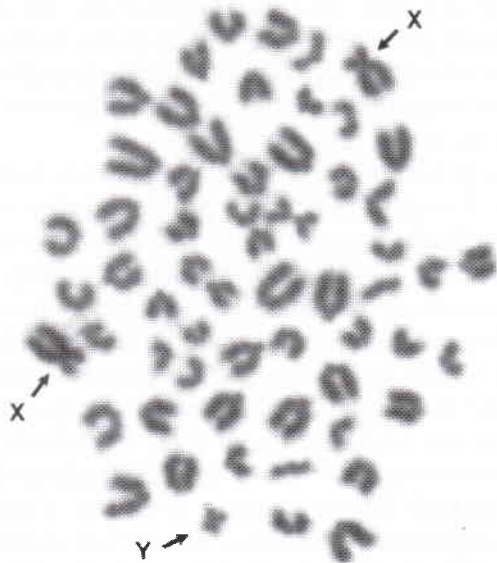
Wyniki i omówienie

Analiza cytogenetyczna oparta na ocenie płytek metafazowych limfocytów krwi buhaja wykazała, w przypadku wszystkich analizowanych komórek, obecność 61 chromosomów. Oprócz typowych akrocentrycznych autosomów, wyróżniały się trzy chromosomy submetacentryczne: jeden mały chromosom płciowy Y oraz dwa duże przypominające chromosomy X (ryc. 2). Ocena prążków G potwierdziła u badanego osobnika obecność trisomii chromosomów płciowych 61,XXY w linii czystej.

Zarejestrowany przypadek nieprawidłowości kariotypu stanowi jedną z postaci aberracji liczbowych

(aneuploidii). Przyjmuje się, że wady tego typu powstają najczęściej w wyniku nierównomiernego rozdzielenia się (nondysjunkcji) chromosomów w trakcie mejozy lub podziałów mitotycznych zygoty. Efektem nondysjunkcji mejotycznej są gamety zaopatrzone w nieprawidłową liczbę chromosomów, które w połączeniu z gametą prawidłową prowadzą do powstania zygoty, np. trisomicznej, monosomicznej, itd. Wszystkie komórki somatyczne rozwijającego się organizmu posiadają wówczas taką samą, nieprawidłową liczbę chromosomów. Prawdopodobnie taka sytuacja wystąpiła w opisanym przypadku. Nondysjunkcja chromosomów płciowych w przebiegu gametogenezy, u któregoś z rodziców, doprowadziła w efekcie do powstania plemników z dwoma chromosomami płciowymi (X i Y) u ojca lub też komórek jajowych zaopatrzonych w 2 chromosomy X. W wyniku zapłodnienia mogło zatem dojść do powstania i dalszego rozwoju trisomicznej zygoty. Uwagę zwraca również możliwość równoczesnego zapłodnienia przez 2 prawidłowe plemniki z pojedynczymi chromosomami X i Y. Częściej jednak omawianą aberrację stwierdza się u osobników posiadających dwie lub więcej linii (subpopulacji) komórkowych. Zjawisko to jest wynikiem nondysjunkcji mitotycznej lub też wymiany komórek między płodami, jeżeli dany osobnik pochodził z ciąży mnogiej (5,19).

Trisomie chromosomów płciowych są aberracjami, które z reguły wywierają niekorzystny wpływ na rozwój narządów rozrodczych, co przekłada się na obniżenie płodności nosicieli lub też na ich całkowitą bezpłodność, spowodowaną u buhajów dysfunkcją jąder (15). Nosicielstwo trisomii XXY może jednak także pociągać za sobą spowolnienie rozwoju somatycznego. Zdaniem wielu autorów, osobniki obciążone tym defektem, często osiągają średni wzrost i masę ciała tylko w 2 początkowych miesiącach życia, później zaś



Ryc. 2. Płytkę metafazową buhaja Coler (61,XXY)



Ryc. 3. Profil głowy buhaja 61,XXY



Ryc. 4. Profil głowy buhaja 60,XY

Tab. 1. Wyniki pomiarów testimetrycznych (w cm) u buhaja 61,XXY oraz u buhajów kontrolnych o kariotypie 60,XY ($\bar{x} \pm s$)

Metoda pomiaru	Pomiar	Buhaj 61,XXY		Buhaje kontrolne (n = 10)	
Taśma metryczna	obwód worka mosznowego	22,0		29,85 ± 2,16	
	długość jądra	jądro prawe	jądro lewe	jądro prawe	jądro lewe
Cyrkiel kabłąkowy		6,5	6,5	9,5 ± 0,74	9,6 ± 0,70
	wymiary poprzeczne jąder	3,5 × 3,5	3,5 × 3,0	5,35 ± 0,63 × 4,90 ± 0,52	5,20 ± 0,63 × 4,80 ± 0,59
Ultrasonograf		3,08 × 2,92	3,09 × 2,80	4,69 ± 0,52 × 4,68 ± 0,53	4,62 ± 0,46 × 4,56 ± 0,43
	wymiary poprzeczne jąder				

rozwijają się znacznie wolniej w porównaniu z buhajami w tym samym wieku (5, 20). Wydaje się, że sytuacja taka miała miejsce w przypadku opisywanego osobnika, bowiem przebywający w tej samej oborze, młodszy o 10 dni buhaj 60,XY (100% hf), charakteryzował się większą masą ciała o około 60 kg.

Z kolei Dunn i wsp. (6) zwrócili uwagę na feminizację eksterieru. U 14 miesięcznego buhaja XXY rasy Hereford stwierdzili oni żeński wygląd okolicy twarzy oraz karku. To rzadko opisywane spostrzeżenie znalazło potwierdzenie w przypadku buhaja Coler, który odznaczał się wyraźnie innym kształtem głowy w porównaniu z kariotypowo prawidłowym rówieśnikiem tej samej rasy (ryc. 3 i 4).

Ocena przydatności rozplodowej buhaja była ograniczona. Pomimo obecności prowokatorów (innych buhajów) badany osobnik nie wykazywał oznak popędu płciowego. Wobec braku odruchu erekcji, pozyskanie nasienia drogą naturalną nie było możliwe. Przeprowadzono zatem pomiary wielkości obu jąder oraz obwodu worka mosznowego, które stanowią jeden z ważniejszych elementów składowych oceny reproduktora. Przyrost wielkości jąder wraz ze wzrostem stężenia testosteronu w krwi odbywa się u młodych samców w sposób liniowy wraz z wiekiem, a zatem na podstawie pomiarów można orientacyjnie określić stopień ich rozwoju (1, 2, 3). Rezultat badań testimetrycznych osobnika XXY w zestawieniu z wartościami śred-

nimi dla 10 kariotypowo prawidłowych buhajów przedstawiono w tab. 1. Wskazuje on na wyraźne różnice w zakresie wszystkich ocenianych parametrów. Stwierdzono, że badany osobnik, w porównaniu do innych samców, wyróżnia się wyraźnie mniejszym obwodem worka mosznowego oraz wymiarami jąder mierzonymi we

wszystkich płaszczyznach. Badanie ultrasonograficzne gonad nie wykazało jednak nieprawidłowości w strukturze ich tkanek. Zarejestrowane u osobnika trisomicznego, wyraźnie mniejsze wymiary jąder w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi są, zdaniem wielu autorów, zjawiskiem niekorzystnym. W badaniach przeprowadzonych na liczny materiał zwierzęcy wykazano bowiem, że buhaje o mniejszym obwodzie worka mosznowego produkują z reguły mniejsze objętości nasienia o zwiększonym udziale nieprawidłowych plemników (9, 14, 26). Stwierdzono ponadto, że niewielkie wymiary gonad u buhajów często związane są z ich hipoplazją (14). Wydaje się, że podobna sytuacja mogła wystąpić u badanego osobnika, bowiem wyniki wielu obserwacji wskazują na ścisły związek trisomii chromosomów płciowych z

Tab. 2. Zawartość testosteronu w osoczu krwi buhaja 61,XXY oraz u buhajów kontrolnych (60,XY) przed i po stymulacji hormonalnej ($\bar{x} \pm s$)

Czas badania	Stężenie testosteronu (ng/ml)	
	buhaj 61,XXY	buhaje kontrolne (n = 10)
Przed podaniem GnRH	7,22 ± 0,11	1,49 ± 1,58
Po podaniu GnRH	1 h	-
	2 h	5,80 ± 2,31

niedorozwojem jąder u buhajów, czemu z reguły towarzyszy degeneracja kanalików nasiennych, a w efekcie azoospermia lub oligospermia (5-7, 11, 13, 16, 20, 23).

Wyniki oceny wewnątrzwydzielniczej jąder na podstawie stężenia testosteronu w osoczu krwi przedstawiono w tab. 2. Średnie stężenie oznaczonego hormonu u buhaja 61,XXY było przed stymulacją hormonalną około 5-krotnie wyższe, aniżeli średnia wartość tego wskaźnika u rówieśników. zaznaczyć jednak należy, że stężenie testosteronu w krwi podlega znacznemu zróżnicowaniu osobniczemu. Wskazuje na to duża rozpiętość wyników oznaczeń tego hormonu u 10 kariotypowo prawidłowych buhajów (od 0,16 do 3,87 ng/ml). Podanie GnRH nie spowodowało znaczącego wzrostu stężenia testosteronu w krwi badanego samca. Wynik ten wyraźnie odbiega od rezultatu badań przeprowadzonych u zwierząt kontrolnych, u których wykazano średnio niemal 4-krotny wzrost stężenia badanego hormonu. Reakcję na iniekcję GnRH zarejestrowano u wszystkich buhajów kontrolnych, jednak jej intensywność była bardzo zróżnicowana. Wydaje się, że omawiana stymulacja w większym stopniu dotyczy zwierząt odznaczających się niewielkim wyjściowym stężeniem testosteronu, np. u buhaja z początkowym stężeniem testosteronu wynoszącym 0,16 ng/ml zarejestrowano po 2 godzinach od podania GnRH wartość 5,28 ng/ml. Z kolei u innego osobnika, odznaczającego się większą zawartością omawianego hormonu (3,87 ng/ml), wyrzut testosteronu do krwi był relatywnie mniejszy (6,51 ng/ml).

Uzyskane wyniki pozwalają zakwalifikować badanego buhaja do zwierząt o relatywnie dużej zawartości tego hormonu, a tym samym wskazywać na sprawność jąder w realizacji zadań wewnątrzwydzielniczych. Niestety nie potwierdził jednak tego spostrzeżenia przeprowadzony test stymulacji hormonalnej. Brak reakcji jąder w postaci uwolnienia do krwi większych ilości testosteronu po iniekcji egzogenego hormonu (GnRH) może wskazywać na ich niedorozwój. Wydaje się, że fakt ten może wiązać się z niewielkimi rozmiarami gonad, które nie są zdolne do zwiększonej syntezy testosteronu. Pewnym potwierdzeniem tego przypuszczenia mogą być wyniki badań Palasza i wsp. (14), którzy u buhajów z niewielkimi jądrami rejestrowali na ogół wyraźnie słabiej zaznaczony wzrost stężenia testosteronu po iniekcji GnRH w porównaniu z osobnikami o większych gonadach.

Wyniki przeprowadzonych obserwacji zdają się potwierdzać ścisły związek nosicielstwa trisomii XXY z niedorozwojem i dysfunkcją jąder. Wydaje się, że ich kontynuacja w miarę nabywania przez buhaja dojrzałości oraz wzbogacenie m.in. o badania większej liczby hormonów (FSH, LH, progesteron), ewentualną ocenę jakości nasienia oraz badania histologiczne przyczynią się do lepszego poznania następstw tej stosunkowo rzadko występującej ubuhajów aberracji chromosomowej.

Piśmiennictwo

1. Aravindakshan J. P., Honaramooz A., Bartlewski P. M., Beard A. P., Pierson R. A., Rawlings N. C.: Pattern of gonadotropin secretion and ultrasonographic evaluation of developmental changes in the testis of early and late maturing bull calves. *Theriogenology* 2000, 54, 339-354.
2. Bell D. J., Spitzer J. C., Bridges Jr. W. C., Olson L. W.: Methodologically for adjusting scrotal circumference to 365 or 452 days of age and correlation of scrotal circumference with growth traits in beef bulls. *Theriogenology* 1996, 46, 659-669.
3. Bruner K. A., McCraw R. L., Whitacre M. D., Van Camp S. D.: Breeding soundness examination of 1952 yearling beef bulls in North Carolina. *Theriogenology* 1995, 44, 129-145.
4. Conterwall W. R., Benirschke K.: An animal model for the XXY Klinefelter's syndrome in man: Tortoiseshell and calico male cats. *Am. J. vet. Res.* 1975, 36, 1275-1280.
5. Danielak B., Kozubka-Sobocińska A., Słota E., Sławomirski J.: Karyotyp 61, XXY in a young bull of Polish Red Breed. *Rocz. Nauk. Zoot.* 1988, 15, 7-14.
6. Dunn H. O., Lein D. H., McEntee K.: Testicular hypoplasia in a Hereford bull with 61, XXY karyotype: The bovine counterpart of human Klinefelter's syndrome. *Cornell Vet.* 1980, 70, 137-146.
7. Gluhovschi N., Bistriceanu M.: Zaburzenia genetyczne i ich znaczenie w patologii zwierząt. *Medycyna Wet.* 1973, 29, 217-220.
8. Iannuzzi L.: G- and R-banded prometaphase karyotypes in cattle (*Bos taurus* L.). *Chrom. Res.* 1996, 4, 448-456.
9. Króliński J., Kopeć M.: Wyniki badań testimetrycznych buhajów użytkowanych w ShiUZ. *Prz. hod.* 1993, 61, 11-14.
10. Króliński J., Gołyźniak Z.: Wstępne wyniki oceny cytogenetycznej buhajów z południowo-zachodnich regionów kraju. *Życie wet.* 1996, 71, 374-376.
11. Loguc D. N., Harvey M. J., Munro C. D., Lennox B.: Hormonal and histological studies in a 61 XXY bull. *Vet. Rec.* 1979, 22, 500-503.
12. Mäkinen A., Katila T., Andersson M., Gustavsson I.: Two sterile stallions with XXY-syndrome. *Equine vet. J.* 2000, 32, 358-360.
13. Molteni L., De Giovanni Macchi A., Meggiolaro D., Sironi G., Enice F., Popescu P.: New casus of XXY constitution in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 1999, 19, 107-113.
14. Palasz A. T., Cates W. F., Barth A. D., Mapletoft R. J.: The relationship between scrotal circumference and quantitative testicular traits in yearling beef bulls. *Theriogenology* 1994, 42, 715-726.
15. Rejduch B., Świtoński M., Słota E., Daniela B., Kozubka-Sobocińska A.: Aberracje chromosomowe u bydła o użyteczności mięsnej. *Medycyna Wet.* 1994, 50, 379-382.
16. Rieck G. W.: Das XXY-Syndrom beim Rind (Boviner Hypogonadismus). *Giessener Beitr. Erbp. Zuchthyg.* 1970, 1, 138-146.
17. Seguin B. E., Zhang T. Q., Buoen L. C., Weber A. F., Ruth G. R.: Cytogenetic survey of Holstein bulls at a commercial artificial insemination company to determine prevalence of bulls with centric fusion and chimeric anomalies. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 2000, 216, 56-67.
18. Sysa P. S.: Krajowy system kontroli cytogenetycznej buhajów. *Medycyna Wet.* 1997, 53, 581-584.
19. Sysa P. S., Sławomirski J.: Aberracje chromosomowe u bydła domowego (*Bos taurus*, L.). Cz. II. Nieprawidłowości chromosomów płciowych. *Medycyna Wet.* 1979, 35, 563-565.
20. Sysa P. S., Słota E.: Zespół XXY u bydła. *Rocz. Nauk. Zoot.* 1985, 12, 41-49.
21. Sysa P. S., Słota E., Sławomirski J., Jaszcak K., Świtoński M., Remiszewski J.: Stan badań cytogenetycznych bydła w Polsce. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 1988, z. 333, 247-253.
22. Sysa P. S., Sławomirski J. W., Słota E.: Badania cytogenetyczne buhajów. *Instytut Weterynarii. Puławy*, 1989.
23. Sysa P. S., Króliński J., Gołyźniak Z., Matuszewska M., Słota E.: Kolejny przypadek trisomii XXY u buhaja z wychowalni. *Mat. Konf. Naukowej pt. Aktualne zagadnienia z zakresu embriotransferu, higieny mleka i rozrodu zwierząt domowych. Polanica Zdrój* 1998, 112-113.
24. Świtoński M.: Rozprzestrzenienie aberracji chromosomowych u zwierząt gospodarskich. *Medycyna Wet.* 1992, 48, 131-134.
25. Świtoński M., Lechniak D., Landzwojczak D.: Cytogenetic survey of bulls used in artificial insemination. Reproductive performance of XY/XX chimeric bulls. *Gen. Pol.* 1991, 32, 227-233.
26. Thompson J. A., Forrest D. W., Blanchard T. L., Bronson A. R., Lowes N. L.: Ratios of serum concentrations of testosterone and progesterone from yearling bulls with small testes. *Theriogenology* 1994, 41, 1045-1052.