

Quelques cas de dysgénésie gonadique chez la jument causés par différentes aberrations gonosomiques (monosomie X, mosaïque X/XX et caryotype XY)

E.P. CRIBIU

*I.N.R.A., Laboratoire de Cytogénétique,
Centre de Recherches zootechniques, F 78350 Jouy-en-Josas*

Résumé

L'analyse chromosomique de 7 juments a révélé 4 monosomies X, 1 mixoploïdie 63,X/64,XX et 2 caryotypes mâles 64,XY. Deux juments ont une taille inférieure à la moyenne de leur race et 3 autres ont un comportement agressif. Six de ces animaux ont des gonades rudimentaires et chez une des juments de caryotype XY les gonades n'ont pas été détectées par palpation rectale. L'examen histologique de la gonade d'une des juments 63,X a permis d'observer un stroma ovarien sans développement folliculaire.

Mots clés : Cheval domestique, chromosomes sexuels, anomalies chromosomiques, dysgénésie gonadique.

Summary

Gonadal dysgenesis in mares caused by different gonosomal aberrations (X monosomy, X/XX mosaic, XY karyotype)

Chromosome analysis was performed upon 7 infertile mares. Four had 63,X genotype, 1 was a 63,X/64,XX female and 2 were 64,XY sex-reversed females. Two mares were of less than average size for their breed and 3 others showed aggressive behaviour. Six animals, had very small rudimentary gonads and in 1 case with an XY gonosomal constitution the gonads were not palpable *per rectum*. Histological examination showed that the gonad of a 63,X mare was completely devoid of follicles and consisted entirely of stroma tissue.

Key words : Domestic horse, sex chromosomes, chromosomal abnormalities, gonadal dysgenesis.

I. Introduction

Le sexe, étant déterminé lors de la formation du zygote, un développement sexuel normal suppose une concordance entre les sexes chromosomiques, gonadiques et phénotypiques. Chez les mammifères, la gonade indifférenciée devient un ovaire lorsque le

caryotype est XX et un testicule lorsqu'il est XY. Par conséquent, la plupart des aberrations géniques ou chromosomiques des gonosomes sont associées à des anomalies de l'appareil reproducteur externe ou interne et à des troubles de fertilité. De telles anomalies sont une cause importante de stérilité du cheval puisque plus d'une centaine d'animaux intersexués ou atteints de dysgénésie gonadique ont déjà été observés dans la littérature (CRIBIU, 1984).

Cette note présente 7 cas de dysgénésie gonadique associés aux caryotypes 63,X, 63,X/64,XX ou 64,XY chez la jument.

II. Matériel et méthodes

Le sang de 7 juments soupçonnées de stérilité a été cultivé suivant la méthode de MOORHEAD *et al.*, (1960) légèrement modifiée par DE GIOVANNI *et al.* (1979) : 1,5 ml de sérum autologue prélevé sur tube sec et 0,5 ml de mélange leucocyte-plasma prélevé sur tube hépariné ont été ajoutés à 8 ml de milieu HAM'S F12 supplémenté de 100 UI/ml de pénicilline, 100 mcg/ml de streptomycine et 4 gouttes de Pokeweed (GIBCO). Après 3 j d'incubation à 37 °C, un blocage de 1 h 30 mn à la colcéamide (concentration finale : 0,03 mcg/ml), un choc hypotonique dans du chlorure de potassium (0,075 M) pendant 10 mn à 37 °C et 3 fixations de 1 h, les suspensions cellulaires ont été étalées sur lame. Les préparations ont ensuite été soit colorées avec du Giemsa (4 p. 100), soit traitées pour le marquage C selon la méthode de SUMNER (1972), légèrement modifiée par CRIBIU & DE GIOVANNI (1978) : les lames, plongées dans une solution saturée de 5 p. 100 d'hydroxyde de barium à 40 °C pendant 15 mn, sont rincées abondamment, puis mises à incuber à 50 °C pendant 1 h 45 mn, dans une solution 2xSSC (0,3 M de chlorure de sodium ; 0,03 M de citrate trisodique) à pH 7. Les lames sont ensuite colorées dans une solution de Geimsa à 4 p. 100 pendant 7 mn.

III. Résultats

L'analyse chromosomique des 7 juments à l'aide de la technique de coloration conventionnelle et du marquage C a permis d'observer 4 monosomies X, 1 mixoploïdie 63,X/64,XX et 2 64,XY. Les chromosomes ont été rangés suivant la classification recommandée à la conférence de Reading (FORD *et al.*, 1980) (fig. 1, 2 et 3). Ces animaux sont tous des pur-sang anglais (PS) et des selles français (SF). L'âge des différentes mères au moment de la conception est compris entre 4 et 7 ans et seules les juments 1 et 5 sont apparentées puisque demi-sœurs utérines (CRIBIU & LOSFELD, 1982). Deux juments 63,X (1 et 3) ont une taille inférieure à la moyenne de leur race et 3 (1, 5 et 7) un comportement agressif envers leurs congénères et l'homme. Les organes génitaux externes ainsi que les dérivés des canaux de Müller sont normaux mis à part un utérus légèrement plus petit chez la jument 3. La palpation rectale a permis de déceler des gonades très petites de la taille d'un petit pois ou d'une noisette (1 à 6) ou absentes (7). L'examen histologique, pratiqué chez l'animal 2 (METENIER *et al.*, 1979) laisse apparaître une gonade constituée par un stroma ovarien sans développement folliculaire. Enfin, les cycles œstraux sont très variables puisque chez certains animaux, ils sont complètement absents ou très irréguliers, alors que chez d'autres, ils apparaissent normaux (tabl. 1).

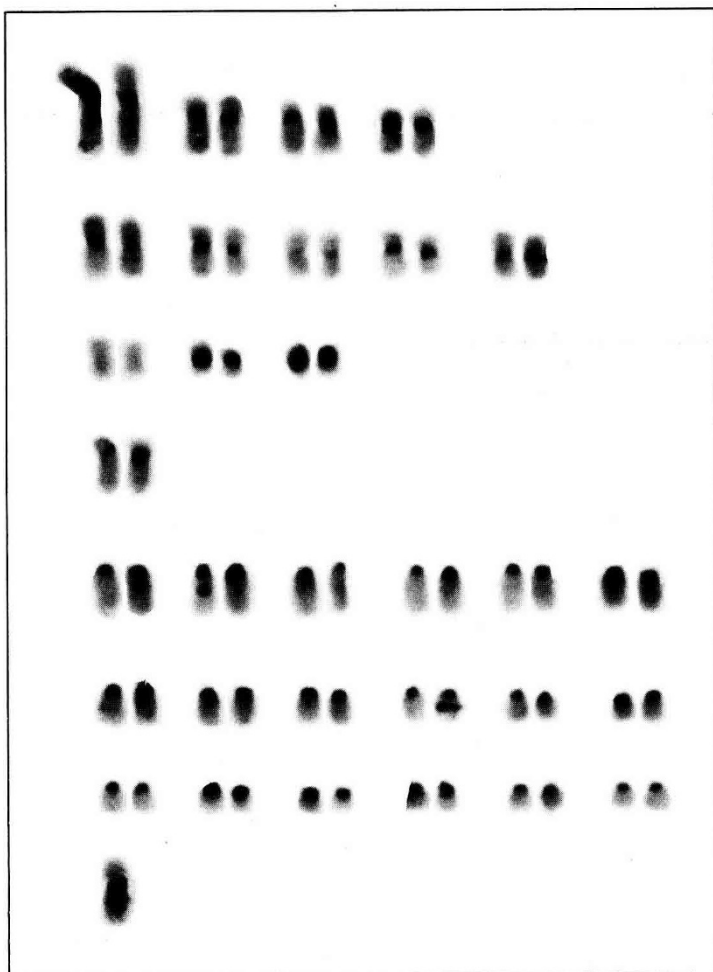


FIG. 1

Caryotype 63,X coloré pour la bande C (jument n° 3).
C-Banded karyotype with 63,X chromosomes (mare n° 3).



FIG. 2

*Métaphase 64,XX colorée pour les bandes C (jument n° 5)
Les chromosomes X sont marqués par des flèches.*

*C-Banded metaphase with 64,XX chromosomes (mare n° 5)
The X chromosomes are indicated by arrows.*

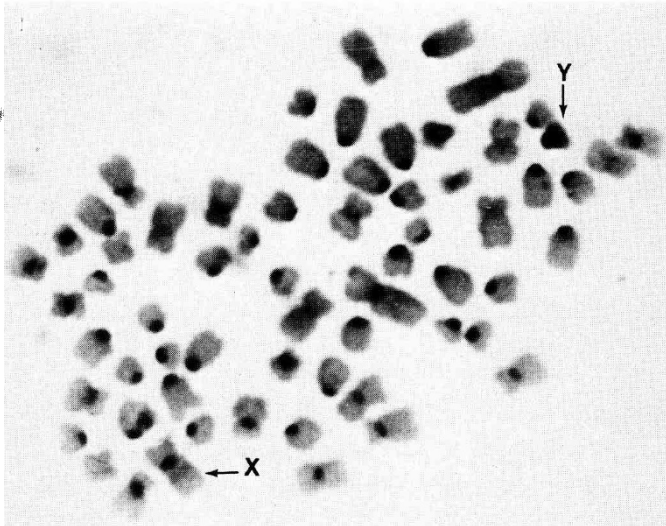


FIG. 3

*Métaphase 64,XY colorée pour les bandes C (jument n° 7)
Les chromosomes sexuels sont marqués par des flèches.*

*C-Banded metaphase with 64,XY chromosomes (mare n° 7)
The sex chromosomes are indicated by arrows.*

TABLEAU 1
Description clinique des jumens.
Clinical description of mares.

N°	Race	Caryo- type	Age	Age de la mère à la conception	Taille	Compor- tement	Organes génétaux externes	Dérivés des canaux de Müller	Ovaires	Cycles	Remarques
1	PS	63,X	2 ans	7 ans	1,53 m	agressif	normaux	normaux	très petits	absents	
2	SF	63,X	—	—	—	—	normaux	normaux	très petits	absents	examination histologique
3	PS	63,X	3 ans	7 ans	1,52 m	—	normaux	petit utérus	très petits	absents	problèmes de déformations osseuses
4	SF	63,X	6 ans	5 ans	normale	normal	normaux	normaux	très petits	irréguliers	
5	PS	63,X/ 64,XX	5 ans	4 ans	1,61 m	agressif	normaux	normaux	petits	irréguliers	Venue une seule fois en chaleur
6	SF	64,XY	6 ans	7 ans	normale	normal	normaux	normaux	très petits	réguliers (?)	très bonne carrère en course
7	SF	64,XY	13 ans	5 ans	normale	agressif	normaux	normaux	non palpables	réguliers (?)	très bonne carrère en course

IV. Discussion

Le caryotype du cheval domestique comporte 64 chromosomes composés de 4 paires de submétacentriques, 5 paires de grands métacentriques, 3 paires de petits métacentriques, 1 paire de grands subtélocentriques, 18 paires d'acrocentriques, 1 chromosome X submétacentrique et 1 chromosome Y acrocentrique. La seule technique de coloration conventionnelle ne permet pas l'identification des gonosomes. Par contre, le marquage C qui laisse apparaître deux bandes sur le chromosome X et le chromosome Y presque entièrement foncé facilite la détermination du sexe génotypique et la mise en évidence des 2 types d'anomalies chromosomiques (BUCKLAND *et al.*, 1976 ; MELCHIOR & HOHN, 1976 ; CRIBIU & DE GIOVANNI, 1978).

Les aneuploïdies proviennent généralement de la non-disjonction des chromosomes pendant les différentes divisions des cellules germinales ou du zygote. Chez l'homme, la monosomie X semble aussi être causée par la perte du chromosome sexuel paternel au moment de la fertilisation parce que d'une part, sa fréquence est inversement proportionnelle à l'âge de la mère (KAJI & OHAMA, 1979 ; WARBURTON *et al.*, 1980) et que d'autre part, 77 p. 100 des femmes 45,X possèdent un chromosome X d'origine maternelle (SANGER *et al.*, 1977). Cependant, chez le cheval, les données concernant l'âge des mères à la conception sont insuffisantes pour déterminer une liaison quelconque avec l'incidence de l'anomalie (TROMMERSHAUSEN-SMITH *et al.*, 1979). Les 4 juments 63,X présentent les mêmes caractéristiques que la plupart de celles qui ont déjà été décrites dans la littérature (CHANDLEY *et al.*, 1975 ; BLUE *et al.*, 1978 ; TROMMERSHAUSEN-SMITH *et al.*, 1979). Leur phénotype est celui d'une femelle normale avec dans certains cas une taille légèrement inférieure à la moyenne de la race et un comportement agressif. La vulve et le vagin sont normaux, l'utérus bien qu'il puisse être de taille normale est très souvent flasque et rudimentaire et les gonades sont généralement petites et inactives, constituées par un stroma ovarien sans développement folliculaire. Les cycles œstraux sont absents ou très irréguliers.

Deux syndromes sont souvent associés au caryotype mâle des juments : la dysgénésie gonadique et le testicule féminisant (KENT *et al.*, 1982). Les juments XY, phénotypiquement normales, atteintes de testicule féminisant présentent un vagin borgne, aucun utérus, des testicules intraabdominaux ou inguinaux composés de tubules séminifères ne contenant que des cellules de Sertoli et aucun signe d'œstrus (KIEFFER *et al.*, 1976). Les juments 6 et 7 avec leur utérus et les dérivés des canaux de Müller normaux se rapprochent plus des cas de dysgénésie gonadique XY déjà observés par KENT (1981). L'observation de cycles réguliers en absence d'ovaires chez la jument 7 est surprenante et contradictoire et il est probable que lors de la fouille rectale, les gonades n'ont pas pu être palpées à cause de leurs petites tailles.

La majorité des observations chez l'homme (GERMAN *et al.*, 1978) et chez le cheval (KENT, 1981 et KENT *et al.*, 1982) suggèrent que le syndrome de dysgénésie gonadique XY est déterminé par un gène récessif lié au sexe.

V. Conclusion

Les 2 chromosomes X étant euchromatiques et actifs dans les ovogonies et les ovocytes (EPSTEIN, 1969 ; MIGEON & JELALLIAN, 1977), l'absence d'un X pourrait causer un développement folliculaire pauvre qui accélérerait les processus conduisant à la perte

de l'ovocyte (BURGOYNE, 1978). Les cellules germinales des fœtus 45,X dégèrent vers la fin de la période fœtale, et au moment de la naissance, seul un petit nombre d'ovocytes reste encore dans les ovaires (CARR *et al.*, 1968). Ces ovocytes auront tous disparu à la puberté chez les espèces dont l'intervalle de génération est long (LYON & HAWKER, 1979 ; BURGOYNE & BIGGERS, 1976). Les juments 63,X et 64,XY sont par conséquent généralement stériles bien que SHARP *et al.* (1980) aient observé une femelle XY fertile et que BLUE (1976) ait noté une activité folliculaire chez une jeune jument 63,X.

Reçu le 28 décembre 1983.

Accepté le 20 février 1984.

Références bibliographiques

- BLUE M., 1976. *A clinical cytogenetical study of the horse*. Thesis, Massey Univ., Palmerstone North, New-Zealand.
- BLUE M., BRUERE A.N., DEWES H.F., 1978. The significance of the XO syndrome in infertility of the mare. *N.Z. Vet. J.*, **26**, 137-141.
- BUCKLAND R.A., FLETCHER J.M., CHANDLEY A.C., 1976. Characterization of the domestic horse (*Equus caballus*) Karyotype using G and C-Banding techniques. *Experientia*, **32**, 1146-1149.
- BURGOYNE P.S., BIGGERS J.D., 1976. The consequences of X-dosage deficiency in the germ line : impaired development *in vitro* of preimplantation embryos from XO mice. *Dev. Biol.*, **51**, 109-117.
- BURGOYNE P.S., 1978. The role of the sex chromosomes in mammalian germ cell differentiation *Ann. Biol. Anim.*, **18**, 317-325.
- CARR D.H., HAGGAR R.A., HART A.G., 1968. Germ cells in the ovaries of XO female infants. *Ann. Clin. Pathol.*, **49**, 521-526.
- CHANDLEY A.C., FLETCHER J., ROSSDALE P.D., PEACE C.K., RICKETTS S.W., Mc ENERY R.J., THORNE J.P., SHORT R.V., ALLEN W.R., 1975. Chromosome abnormalities as a cause of infertility in mares. *J. Reprod. Fert., Suppl.* **23**, 377-383.
- CRIBIU E.P., DE GIOVANNI A., 1978. Le caryotype du cheval domestique (*Equus caballus* L.), de l'âne (*Equus asinus*) et du mulet par la méthode des bandes C. *Ann. Génét. Sél. Anim.*, **10**, 161-170.
- CRIBIU E.P., LOSFELD P., 1982. Two further cases of XO and XO/XX chromosome constitution in mares. *Vth European Colloquium on Cytogenetics of Domestic Animals, Milano-Gargnano, June 7-11, 1982*, 318-323.
- CRIBIU E.P., 1984. Caryotype normal et anomalies chromosomiques du cheval domestique (*Equus caballus* L.). *Rec. Med. Vet.*, **160**, 131-139.
- DE GIOVANNI A., MOLteni L., SUCCI G., CASTIGLIONI M., CRIBIU E.P., 1979. The idiogram of the domestic horse (*Equus caballus* L.). *Caryologia*, **32**, 215-222.
- EPSTEIN C.J., 1969. Mammalian oocytes : X chromosomes activity. *Science*, **163**, 1078-1079.
- FORD C.E., POLLOCK D.L., GUSTAVSSON I., 1980. Proceedings of the First International Conference for the Standardization of Banded karyotypes of Domestic animals. University of Reading, Reading, England, 2nd-6th August 1976. *Hereditas*, **92**, 145-162.
- GERMAN J., SIMPSON J.L., CHAGANTI R.S.K., SUMMITT R.L., REID L.B., MERKATZ I.R., 1978. Genetically determined sex-reversal in 46,XY humans. *Science*, **202**, 53-56.
- KAJII T., OHAMA K., 1979. Inverse maternal age effect in monosomy X. *Human. Genet.*, **51**, 147-151.
- KENT M.G., 1981. The X-Y sex reversal syndrome. *Horse illustrated*, **29**, 30-34.

- KENT M.G., BUOEN L.C., EILTS B.E., WEBER A.F., SHOFFNER R.N., 1982. X-Y sex reversal syndrome in the horse. *Vth European Colloquium on Cytogenetics of Domestic Animals, Milano-Gargnano, June 7-11, 1982*, 331-335.
- KIEFFER N.M., BURNS S.J., JUDGE N.G., 1976. Male pseudohermaphroditism of the testicular feminizing type in a horse. *Equine Vet. J.*, **8**, 38-41.
- LYON M.F., HAWKER S.G., 1973. Reproductive lifespan in irradiated and unirradiated chromosomally XO mice. *Genet. Res.*, **21**, 185-194.
- MELCHIOR I., HÖHN H., 1976. Der Karyotyp der Pferdes (*Equus caballus*) dargestellt mit Hilfe der G- und C-Banden-Technik. *Giessenel. Beitr. Erbpathol. Zuchthyg.*, **6**, 179-194.
- METENIER L., DRIANCOURT M.A., CRIBIU E.P., 1979. An XO chromosome constitution in a sterile mare (*Equus caballus*). *Ann. Génét. Sél. anim.*, **11**, 161-163.
- MIGEON B.R., JELALIAN K., 1977. Evidence for two active X chromosomes in germ cells of female before meiotic entry. *Nature*, **269**, 242-243.
- MOORHEAD P.S., NOWELL P.C., MELLMAN W.J., BATTIPS D.M., HUNDGERFORD D.A., 1960. Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell. Res.*, **20**, 613-616.
- SANGER R., TIPPET P., GAVIN J., TEESDALE P., DANIELS G.L., 1977. Xg groups and sex chromosome abnormalities in people of northern european ancestry : an addendum. *J. Med. Genet.*, **14**, 210-213.
- SHARP A.J., WACHTEL S.S., BERNISRCHKE K., 1980. H-Y antigen in a fertile XY female horse. *J. Reprod. Fert.*, **58**, 157-160.
- SUMNER A.T., 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell Res.*, **75**, 304-306.
- TROMMERSHAUSEN-SMITH A., HUGHES J.P., NEELY D.P., 1979. Cytogenetic and clinical findings in mares with gonadal dysgenesis. *J. Reprod. Fert. Suppl.* **27**, 271-276.
- WARBURTON D., KLINE J., STEIN Z., SUSSER M., 1980. Monosomy X : a chromosomal anomaly associated with young maternal age. *Lancet*, **1**, 167-169.