

Nieprawidłowości chromosomów płci jako istotne przyczyny zaburzeń rozwoju płci kotów

Izabela Szczerbal, Monika Stachowiak, Joanna Nowacka-Woszek, Marek Świtoński

z Katedry Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

Sex chromosomes abnormalities are important causes of disorders of sex development in cats

Szczerbal I., Stachowiak M., Nowacka-Woszek J., Świtoński M., Department of Genetics and Animal Breeding, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Poznan University of Life Sciences

Disorders of sex development (DSDs) are defined as congenital conditions in which a mismatch between chromosomal, gonadal and anatomic sex is observed. DSDs are quite often reported in cats. Some DSD cases are diagnosed due to unusual coat color in males (e.g. calico or tortoiseshell). These disorders affect reproduction, behavior and may lead to an increased risk of gonadal tumorigenesis. Three main categories of DSDs, based on sex chromosomes set, have been recognized: sex chromosome DSD, XX DSD and XY DSD. Cytogenetic analysis plays a crucial role in the classification of DSD cases. In this paper, an overview of sex chromosome DSD in cats is presented. Application of advanced cytogenetic analysis allowed to identify different abnormalities of sex chromosomes, including aneuploidies (X monosomy and XXY syndrome), structural rearrangements (X/Y translocation causing transfer of the SRY gene from Y to X chromosome or Y ring chromosome), and leukocyte XX/XY chimerism. It is recommended that cats with ambiguous genitalia should be subjected to cytogenetic diagnosis. Identification of genetic background of the observed sexual abnormalities facilitates distinguishing between hereditary (caused by gene mutations), and spontaneous sex chromosome abnormalities, which occurred during gametogenesis or embryonic development. In conclusion, a close collaboration between veterinary clinicians, cat breeders, and geneticists is highly recommended.

Keywords: intersexuality, sex chromosomes, monosomy, trisomy, mosaicism, chimerism, translocation, DSD, cats.

Poznanie podłoża obniżonej płodności lub bezpłodności ma duże znaczenie dla hodowców zwierząt oraz lekarzy weterynarii. Jedną z istotnych przyczyn tych problemów są wrodzone zaburzenia rozwoju płci – DSD (ang. disorders of sex development) (1, 2). Zaburzenia te, określane kiedyś terminem „interseksualizm” lub „obojnactwo”, są heterogenną grupą wrodzonych wad układu rozrodczego (3). U osobników z DSD stwierdza się niezgodność między płcią chromosomową, gonadalną i fenotypową.

Wyróżnia się trzy zasadnicze kategorie DSD, które są zgodne z nomenklaturą przyjętą w odniesieniu do ludzi:

- spowodowane nieprawidłowościami chromosomów płci,
- obecne u osobników z prawidłowym żeńskim układem chromosomów płci – XX,
- występujące u osobników z chromosomami XY.

W świetle powyższego oczywiste jest, że diagnoza DSD powinna się rozpoczynać od analizy cytogenetycznej.

W tym artykule przedstawione są przykłady zaburzeń rozwoju płci kotów spowodowane nieprawidłowościami chromosomów płci, w tym przypadki zdiagnozowane w badaniach własnych.

Geny zaangażowane w różnicowanie płci ssaków

Prawidłowa płeć ssaków związana jest z układem chromosomów płci – XX u samic i XY u samców. Jednak o determinacji i różnicowaniu płci podczas rozwoju płodowego nie decydują chromosomy, a liczne geny (ok. 100), wśród których znakomita większość jest zlokalizowana w chromosomach autosomalnych (4). Jedynie kilka kluczowych dla tego procesu genów jest położonych w chromosomach płci, w tym SRY (chromosom Y) oraz AR (chromosom X). Głównym genem uruchamiającym różnicowanie układu płciowego w kierunku męskim jest gen SRY, którego ekspresja odpowiada za włączenie ekspresji kolejnych genów odpowiedzialnych za przekształcenie niezróżnicowanych gonad płodowych w jądra. Gen ten koduje białko o funkcji czynnika transkrypcyjnego, czyli włącza ekspresję genów męskiej ścieżki rozwoju (np. SOX9 itd.). Gen SOX9 również koduje czynnik transkrypcyjny i włącza ekspresję kolejnych genów (np. FGF9, AMH itd.). Jednocześnie uruchomienie ekspresji genów ścieżki męskiej blokuje ekspresję genów zaangażowanych w różnicowanie gonady w kierunku jajnika (np. RSP01, FOXL2, WT4, CTNNB1). W rozwoju płci samców istotną rolę odgrywają testosteron i dihydrotestosteron, które są hormonami steroidowymi, a ich powstanie zależy od prawidłowej ekspresji genów kodujących enzymy odpowiedzialne za przekształcenie cholesterolu w te hormony (np. CYP11A1, CYP17A1, HSD17B3, HSD3B2, SRD5A2). Wspomniane powyżej geny to zaledwie przysłowiowy „wierzchołek góry lodowej”. Przykładem potwierdzającym to stwierdzenie mogą być badania ludzi obciążonych DSD, oparte o sekwencjonowanie 64 genów kandydujących, czyli takich, których mutacje wcześniej były opisane jako związane z fenotypem DSD. Badaniami objęto bardzo liczną grupę pacjentów z prawidłowym układem chromosomów płci: 278 z grupy XY DSD oraz 48 z grupy XX DSD. W badaniach tych wykryto mutacje w 28 genach, w których aż 93 zidentyfikowane warianty nie były wcześniej opisane (5). Uzasadnione jest zatem stwierdzenie, że zaburzenia rozwoju płci mają bardzo zróżnicowane podłoże.

Chromosomy kota domowego

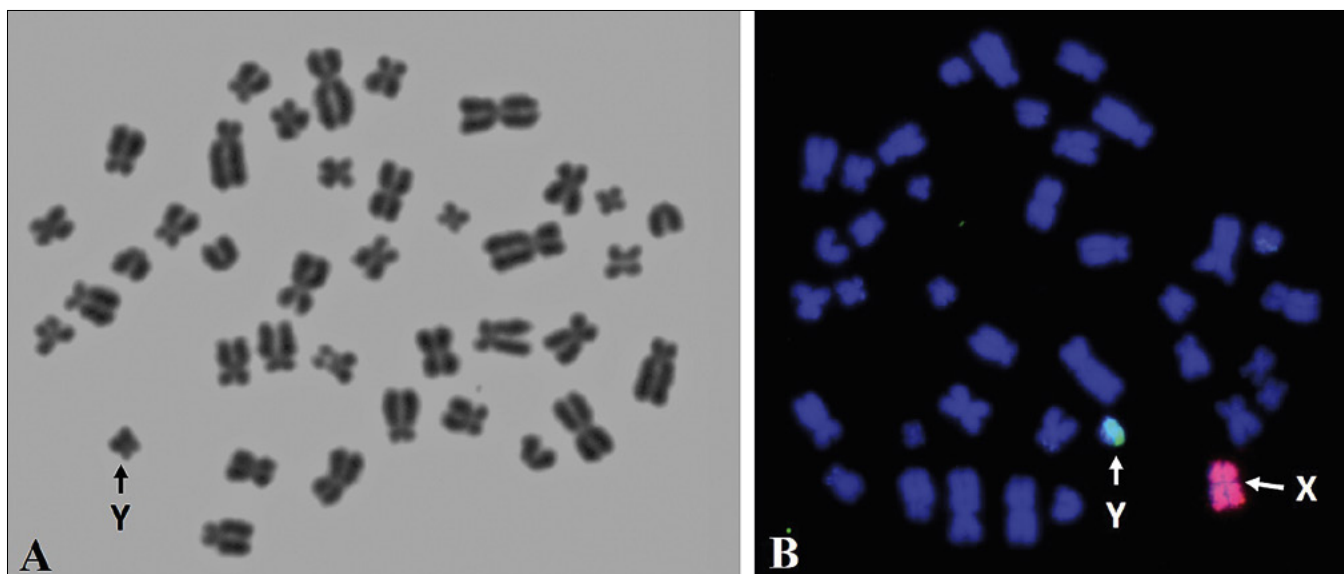
Kot jest gatunkiem, który posiada niewielką diploidalną liczbę chromosomów $2n = 38$. Morfologia chromosomów płci, po zastosowaniu konwencjonalnego barwienia odczynnikami Giemsy, pozwala na zidentyfikowanie chromosomu Y (ryc. 1A). Natomiast wskazanie chromosomu X wymaga zastosowania tzw. barwienia prążkowego (np. G) lub techniki fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* z wykorzystaniem tzw. sondy malującej, czyli hybrydującej z całym chromosomem X (ryc. 1B). W badaniach nieprawidłowości chromosomów płci samców kota ważną wskazówką jest wystąpienie umaszczenia szylkretowego, które jest związane z losową inaktywacją chromosomu X, która ma miejsce w zarodkach żeńskich ssaków. Gen rudego umaszczenia ma dwa podstawowe warianty (allele) – dominujący (O) warunkujący rude umaszczenie oraz recesywny (o), który odpowiada za brak rudego umaszczenia. Gen ten jest położony w chromosomie X, czyli jest sprzężony z płcią. Locus tego genu zidentyfikowano w ramieniu długim chromosomu X w regionie liczącym ok. 11 mln par zasad (Mpz) – między pozycją 106 Mpz i 117 Mpz (6). Wystąpienie genotypu OO u samic manifestuje się rudym umaszczeniem, natomiast w przypadku genotypu heterozygotycznego (Oo) pojawia się umaszczenie szylkretowe, ponieważ allel O jest inaktywowany w ok. połowie komórek i pojawia się podstawowe umaszczenie. W przypadku kocurów z prawidłowym układem chromosomów płci (XY) nie ma miejsca inaktywacja chromosomu X i dlatego umaszczenie szylkretowe nie występuje. Natomiast w przypadku zaburzeń rozwoju płci takie umaszczenie jest możliwe i jest ono wynikiem wystąpienia u takiego kocura dwóch chromosomów X, m.in. XXY czy XX^{SRY} (sytuacja, w której doszło do przeniesienia genu SRY z chromosomu Y do X). Wynika zatem z tego, że umaszczenie szylkretowe u kocura jest wskazaniem, że ma on prawdopodobnie nietypowy zestaw chromosomów płci.

Diagnostyka zaburzeń rozwoju płci kotów

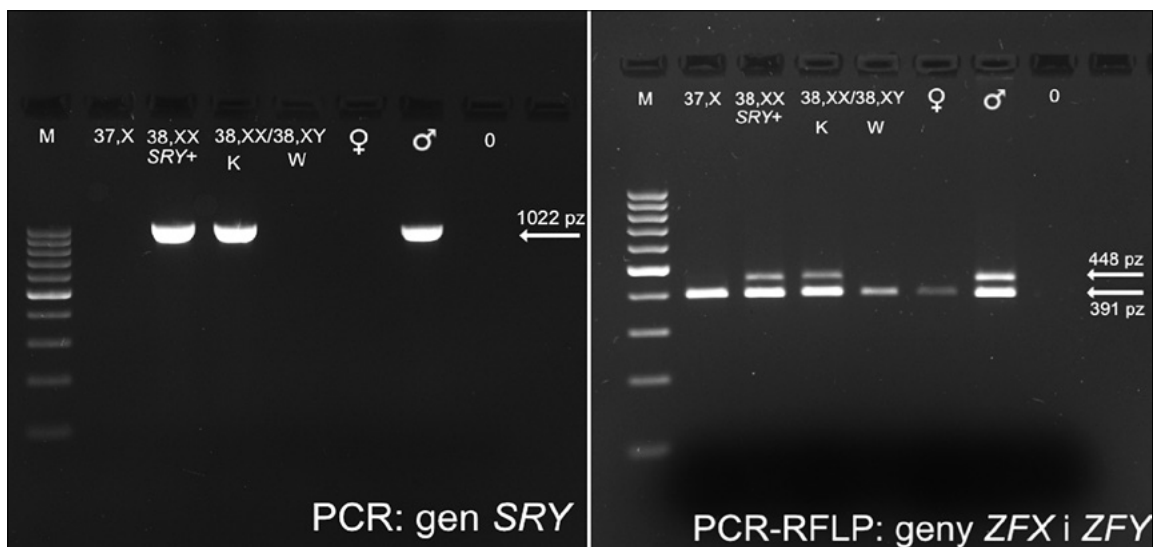
Poznanie podłoża zaburzeń rozwoju płci ma istotne znaczenie dla lekarza weterynarii, jak i hodowcy. Prawidłowa diagnoza jest cenną wskazówką dla hodowcy w kwestii wykorzystania reprodukcyjnego rodziców takiego osobnika. Zaburzenia rozwoju płci spowodowane nieprawidłowościami chromosomów płci są zazwyczaj efektem błędów, które powstały podczas gametogenezy u rodziców z prawidłowym zestawem chromosomów płci lub rozwoju płodowego (np. powstanie połączeń naczyniowych między płodami różnej płci). W takiej sytuacji nie ma przesłanek do wykluczenia rodziców z reprodukcji. Inaczej przedstawia się sytuacja, jeśli przyczyną są mutacje genowe, które zazwyczaj są recesywne. Wystąpienie zaburzeń rozwoju płci u osobnika z prawidłowym zestawem chromosomów płci może wskazywać, że jego rodzice są zdrowymi nosicielami niepożądanego allelu i wówczas należałoby zrezygnować z wykorzystania tych zwierząt w reprodukcji (2).

Diagnostyka genetyczna zaburzeń rozwoju płci rozpoczyna się od wykonania badania cytogenetycznego w celu ustalenia układu chromosomów płci i badania dotyczącego obecności genu SRY, położonego w chromosomie Y. Dodatkowo można wykonać badania genów, których loci znajdują się w obu chromosomach płci: ZFX w chromosomie X oraz ZFY w chromosomie Y. W przypadku podejrzenia obecności dwóch linii komórkowych XX i XY bada się obecność genów z chromosomów płci w DNA izolowanym z różnych tkanek, np. z krwi i cebulek włosowych (ryc. 2). W sytuacjach gdy u danego osobnika podejrzewa się obecność więcej niż jednej linii komórkowej (układ mozaikowy lub chimerowy), wykonuje się także analizę polimorficznych markerów mikrosatelitarnych. Identyfikacja w danym locus więcej niż dwóch wariantów może wskazywać na obecność dodatkowej linii komórkowej.

W wieloletnich badaniach własnych analizą objęto 32 koty skierowane na konsultację genetyczną,



Ryc. 1. Chromosomy kota. Barwienie odczynnikami Giemsy (A); FISH z sondami malującymi dla chromosomu X – czerwony sygnał oraz dla chromosomu Y – sygnał zielony (B)



Ryc. 2. Elektroforegramy badania obecności genów położonych w chromosomie Y (*SRY* i *ZFY*) oraz chromosomie X (*ZFX*). M – marker wielkości, przypadki DSD (37,X; 38,XXSRY+; 38,XX/38,XY, gdzie K – DNA z krwi, W – DNA z cebulek włosowych), ♀ – zdrowa samica, ♂ – zdrowy samiec, 0 – kontrola negatywna bez DNA

nie wliczając przypadków izolowanego wnętrza lub spodziectwa. Wśród nich nietypowy zestaw chromosomów płci stwierdzono u ośmiu osobników (25%; **tab. 1**).

Jednym z pierwszych zdiagnozowanych przypadków była monosomia chromosomu X u kotki syjamskiej (7). Kotka została skierowana na badania ze względu na niejednoznaczny wygląd zewnętrznych narządów płciowych oraz agresywne zachowanie. Stwierdzono u niej cechy wirylizacji, co nie jest typowe dla przypadków monosomii chromosomu X. Zwykle takie samcze cechy pojawiają się, kiedy u danego osobnika występuje dodatkowo linia komórkowa z chromosomem Y. U badanej kotki przebadano łącznie 285 płytek metafazowych i stwierdzono obecność tylko jednego chromosomu X (**ryc. 3A**). Także badania molekularne (brak genów *SRY* i *ZFY*) wykluczyły obecność linii męskiej. Opisany przypadek wskazuje, że u kotów cechy wirylizacji mogą wystąpić przy obecności tylko jednej linii komórkowej – 37,X.

Monosomia X jest rzadko diagnozowana u kotów, co prawdopodobnie spowodowane jest dużym regionem pseudoautosomalnym (PAR) w chromosomach płci tego gatunku, który wynosi blisko 7 Mbp. Brak dużej liczby genów z tego regionu w przypadku monosomii X prawdopodobnie powoduje śmierć zarodków.

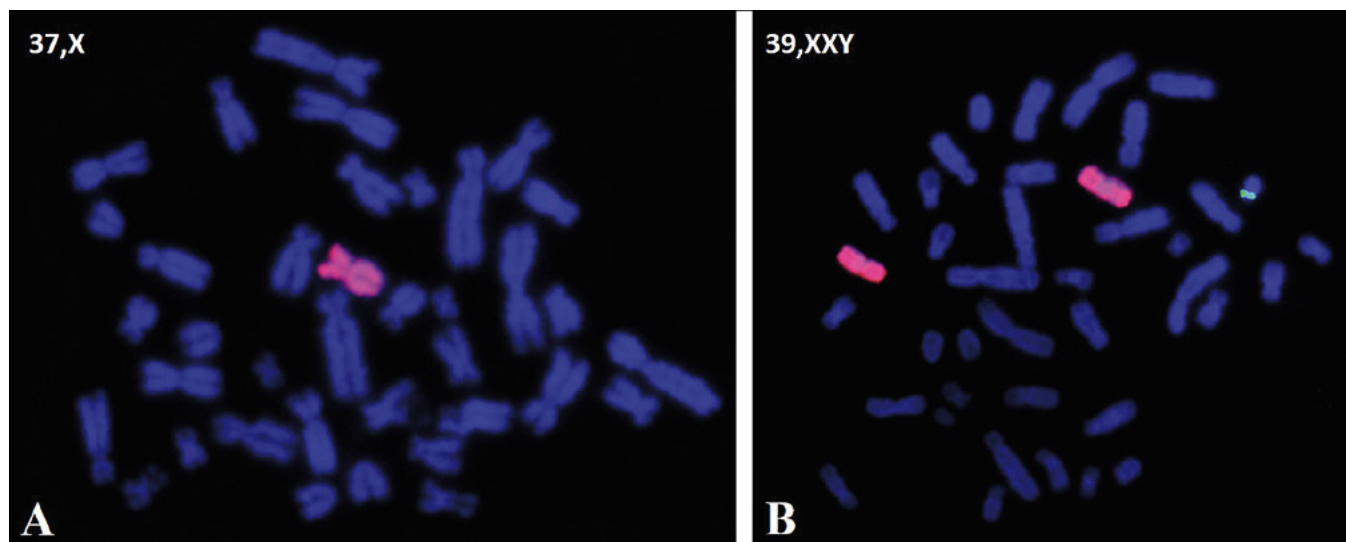
Znacznie częściej u kotów diagnozowany jest zespół 39,XXY (**ryc. 3B**). Spowodowane to jest prawdopodobnie łatwą identyfikacją takich przypadków na podstawie obecności szylkretowego umaszczenia u kocurów. Opisany przez nas przypadek (8) posiadał typowe cechy dla zespołu XXY, m.in. małe jądra bez aktywności spermatogenetycznej. U ludzi taka aneuploidia nazywana jest zespołem Klinefeltera i występuje z częstością raz na ok. 700 urodzonych chłopców.

W naszych badaniach wykazaliśmy, że przyczyną zaburzeń rozwoju płci u szylkretowych kocurów może być też translokacja genu *SRY* z chromosomu Y do chromosomu X, która prowadzi do powstania kariotypu – 38,XX(SRY+). Opisany pierwszy przypadek

Tabela 1. Nieprawidłowości chromosomów płci zidentyfikowane u kotów DSD – podsumowanie badań własnych

Lp.	Umaszczenie szylkretowe	Układ rozrodczy i inne nieprawidłowości stwierdzone w badaniu klinicznym	Chromosomy płci	Obecność genu <i>SRY</i>	Piśmiennictwo
1	nie	prącie, pochwa, macica, jajniki o nieprawidłowej strukturze, brak objawów rui, agresywna wobec innych kotów	37,X	nie	7
2	tak	prącie bez kolców, moszna, brak libido	39,XXY	tak	8
3	tak	niedorozwój prącia, brak kolców prącia, brak moszny, brak jąder, obecne nasieniowody, mały rozmiar ciała	38,XX ^{SRY+}	tak	9
4	tak	normalne prącie, dwudzielna moszna	38,XX ^{SRY+}	tak	10
5	nie	niedorozwój prącia i moszny, jedno jądro w mosznie, drugie w jamie brzusznej, macica	mozaicyzm 37,X/38,X,r(Y)	tak	11
6	nie	normalne męskie zewnętrzne narządy płciowe; zachowanie typowe dla samicy, słabe zainteresowanie samicą; z jednego krycia urodził się potomek	mozaicyzm 37,X/38,XY	tak	10
7	nie	niedorozwój prącia, brak kolców prącia, spodziectwo, srom, jądra w jamie brzusznej	chimeryzm leukocytarny XX/XY	tak*	8
8	nie	niedorozwój prącia, srom, brak macicy, jądra w jamie brzusznej, regularne cykle rujowe	chimeryzm leukocytarny XX/XY	tak*	10

*tylko w komórkach krwi



Ryc. 3. Przykłady płytek metafazowych z monosomią chromosomu X – 37,X (A) oraz zespołem 39,XXY (B). Zastosowano technikę FISH z sondą malującą dla chromosomu X – czerwony sygnał oraz sondą specyficzną dla genu SRY położonego w chromosomie Y – sygnał zielony

u kota (9) był jednocześnie pierwszym zdiagnozowanym przypadkiem u zwierząt domowych. Taka nieprawidłowość u ludzi odpowiada za powstanie zespołu de la Chapelle, który jest bardzo rzadko diagnozowany – jeden na ok. 20 tys. urodzeń chłopców. Fenotyp tego zespołu do pewnego stopnia przypomina zespół Klinefeltera, ale główne różnice dotyczą niższego wzrostu i obecności niezstąpionych jąder. O ile pierwszy z opisanych kotów z taką nieprawidłowością (9) posiadał te wszystkie cechy, to w przypadku drugiego kota (10) obecne było prawidłowe prącie oraz dwudzielna moszna. Jądra miały prawidłowe komórki Sertolego oraz liczne komórki Leydiga, ale brak było komórek rozrodczych. Okazuje się, że koty mimo obecności tej samej mutacji mogą wykazywać znaczne różnice w zakresie zmian fenotypowych. Wystąpienie aż dwóch przypadków translokacji X:Y wśród 32 kotów z zaburzeniami rozwoju płci jest zaskakujące. Warto podkreślić, że do tej pory ciągle nie opisano takiej nieprawidłowości u innych gatunków zwierząt.

Badania ujawniły również bardzo rzadką nieprawidłowość strukturalną chromosomu Y kota (11). Kot z niedorozwiniętymi męskimi zewnętrznymi narządami płciowymi oraz macicą posiadał dwie nieprawidłowe linie komórkowe, jedną z monosomią chromosomu X i drugą z chromosomem Y, który miał strukturę chromosomu pierścieniowego (r) – 37,X/38,X,r(Y). Cechą chromosomów pierścieniowych jest ich niestabilność w trakcie podziałów komórkowych i podatność na ich zagubienie podczas anafazy mitotycznej. Pierwotna płeć kota miała być męska, ale w wyniku utraty chromosomu Y o strukturze pierścieniowej, a tym samym genów z chromosomu Y, doszło do niedorozwoju układu rozrodczego. Podobny karyotyp mozaikowy 37,X/38,XY opisano u kota, który posiadał normalne męskie zewnętrzne narządy płciowe, ale wykazywał zachowanie typowe dla samicy (10). Udział linii monosomicznej wynosił u niego 10%. Taki sam karyotyp (37,X/38,XY) opisali inni badacze (12) u kota bengalskiego, przy czym linia monosomiczna występowała w 96% komórek i jądra kota

były pozbawione aktywności spermatogenetycznej. Przedstawione trzy przypadki karyotypów mozaikowych z linią 37,X u osobników męskich wskazują, że chromosom Y kota może mieć skłonność do niestabilnej segregacji w trakcie podziałów mitotycznych.

Innym zaburzeniem klasyfikowanym jako chromosomowe DSD jest chimeryzm leukocytarny XX/XY. Dwa przypadki tego zaburzenia zdiagnozowane w naszym zespole (8, 10) miały bardzo zbliżony fenotyp – obecny srom, szczątkowe prącie, jądra zlokalizowane w jamie brzusznej, brak macicy. Koty z chimeryzmem zwykle są kierowane na badania na podstawie trudności w określeniu płci. Jest jednak możliwe wystąpienie umaszczenia szylkretowego u takich osobników. Bardzo ciekawy przypadek chimeryzmu ogólnoustrojowego XY/XY został opisany przez (13) u szylkretowego kocura rasy maine coon. Badania cytogenetyczne wykazały występowanie tylko jednej linii męskiej – XY, ale analiza polimorficznych markerów mikrosatelitarnych wykazała występowanie w wybranych markerach 3 i 4 alleli, co jest potwierdzeniem występowania chimeryzmu. Kot był płodny i miał potomstwo. Opisany przypadek wskazuje, że w diagnostyce przypadków DSD kompleksowa analiza cytogenetyczno-molekularna jest konieczna w rozpoznaniu przyczyny obserwowanych zaburzeń.

Należy jednak pamiętać, że w wielu przypadkach karyotyp kotów z DSD będzie prawidłowy (38,XX lub 38,XY) i wówczas należy poszukiwać mutacji w genach kandydujących. Najczęściej diagnozowane są przypadki XY DSD i w tej grupie zaburzeń zidentyfikowano trzy geny (*TAC3*, *CYP11B1* i *LHCGR*), których warianty są związane z DSD (10). Wśród innych badanych genów były *SRY*, *AR*, *SRD5A2*, *MAMLD1* i *HSD17B3*, jednak nie znaleziono w nich mutacji sprawczej (8, 14). XX DSD u kotów jest bardzo rzadki i do tej pory opisano tylko jeden przypadek kota z żeńskim karyotypem i męskimi zewnętrznymi narządami płciowymi oraz normalną moszną i jądrami (15). Wykluczono mutacje w dwóch genach kandydujących – *RSPO1* i *SOX9* jako sprawcze.

Zaburzenia rozwoju płci kotów na tle innych gatunków zwierząt

Ocena częstości występowania DSD spowodowanych różnymi nieprawidłowościami chromosomów płci w różnych gatunkach zwierząt jest utrudniona z kilku powodów. Przede wszystkim, zakres stosowania diagnostycznych badań cytogenetycznych w różnych krajach jest bardzo zróżnicowany. Najwięcej (dziesiątki tysięcy) przebadano dotąd buhajów i knurow w ramach rutynowych badań cytogenetycznych poprzedzających decyzję o ich wykorzystaniu w stacjach produkcji nasienia. W przypadku kotów liczba ta jest znacznie mniejsza i można założyć, że było zaledwie kilkaset takich badań na całym świecie. Nieco większy zasięg mają badania psów.

Wśród zdiagnozowanych u kotów nieprawidłowości chromosomów płci są takie, które często były opisywane u innych gatunków zwierząt, np. chimerizm leukocytarny XX/XY u jałówek (16, 17) oraz monosomia X u kłaczy (18). Zespół XXY diagnozowano rzadko, w tym najwięcej przypadków – 20 – opisano u buhajków (17). Warto zauważyć, że niektóre nieprawidłowości należą do bardzo rzadkich, np. monosomia X u jałówek (17) i loszek (19). Do tej pory nie opisano u innych gatunków zwierząt gospodarskich i towarzyszących translokacji między chromosomem X oraz Y, czego efektem byłoby przeniesienie genu *SRY* z chromosomu Y do X. Z kolei chimeryzm leukocytarny XX/XY jest wykrywany również u loszek (20). Obecność chimeryzmu XX/XY świadczy o wystąpieniu frymartynizmu, czyli zaburzenia rozwoju płci osobnika żeńskiego spowodowanego połączeniem naczyń krwionośnych płodów różnej płci, umożliwiającym oddziaływanie czynników męskich produkowanych przez jądra na płód żeński. Niewielka liczba opisanych przez nas przypadków zaburzeń rozwoju płci związanych z nieprawidłowościami chromosomów płci nie upoważnia do stawiania wniosku, która z omawianych powyżej nieprawidłowości jest najczęstsza, a która najrzadsza u kotów. Z drugiej strony można jednak stwierdzić, że te mutacje nie są rzadkie u kotów.

Podsumowanie

Charakterystyka zaburzeń rozwoju płci kotów z nieprawidłowościami chromosomów płci wskazuje na ich duże zróżnicowanie. Wysnuć można z tego ważny wniosek, że prawidłowa diagnoza takich przypadków nie jest możliwa bez wykonania specjalistycznych analiz cytogenetycznych i molekularnych. Zgromadzone przez nas doświadczenie badawcze wskazuje, że analiza cytogenetyczna i molekularna kotów z zaburzeniami rozwoju płci powinna być wykorzystana w diagnostyce takich przypadków głównie po to, żeby ustalić, czy stwierdzone zaburzenie rozwojowe ma charakter dziedziczny, czy niedziedziczny. Identyfikacja mutacji sprawczych dla XX DSD i XY DSD jest trudna. Można przewidywać, że szersze stosowanie nowych technologii, takich jak sekwencjonowanie nowej generacji – NGS, przyczyni się do postępu w tym zakresie. Ścisła współpraca

między lekarzami weterynarii, hodowcami i właścicielami oraz genetykami zwierząt jest niezbędna dla pełniejszego poznania podłoża zaburzeń rozwoju płci kotów.

Piśmiennictwo

1. Foster R.A.: Disorders of sexual development in the cat: Current state of knowledge and diagnostic approach. *J. Feline Med. Surg.* 2022, **24**, 257–265.
2. Szczerbal I., Switonski M.: Genetic disorders of sex development in cats: An update. *Anim. Reprod. Sci.* 2020, **216**, 106353
3. Poth T., Breuer W., Walter B., Hecht W., Hermanns W.: Disorders of sex development in the dog—Adoption of a new nomenclature and reclassification of reported cases. *Anim. Reprod. Sci.* 2010, **121**, 197–207.
4. Fan Y., Zhang X., Wang L., Wang R., Huang Z., Sun Y., Yao R., Huang X., Ye J., Han L., Qiu W., Zhang H., Liang L., Gu X., Yu Y.: Diagnostic Application of Targeted Next-Generation Sequencing of 80 Genes Associated with Disorders of Sexual Development. *Sci. Rep.* 2017, **7**, 44536.
5. Eggers S., Sadedin S., van den Bergen J.A., Robevska G., Ohnesorg T., Hewitt J., Lambeth L., Bouty A., Knarston I.M., Tan T.Y., et al., *Genome Biol.* 2016, **17**, 243.
6. Schmidt-Küntzel A., Nelson G., David V.A., Schäffer A.A., Eizirik E., Roelke M.E., Kehler J.S., Hannah S.S., O'Brien S.J., Menotti-Raymond M.: A domestic cat X chromosome linkage map and the sex-linked orange locus: mapping of orange, multiple origins and epistasis over nonagouti. *Genetics* 2009, **181**, 1415–1425.
7. Szczerbal I., Nizanski W., Dzimira S., Nowacka-Woszek J., Ochota M., Switonski M.: X monosomy in a virilized female cat. *Reprod. Domest. Anim.* 2015, **50**, 344–348.
8. Szczerbal I., Krzeminska P., Dzimira S., Tamminen T.M., Saari S., Nizanski W., Gogulski M., Nowacka-Woszek J., Switonski M.: Disorders of sex development in cats with different complements of sex chromosomes. *Reprod. Domest. Anim.* 2018, **53**, 1317–1322.
9. Szczerbal I., Stachowiak M., Dzimira S., Sliwa K., Switonski M.: The first case of 38,XX (SRY-positive) disorder of sex development in a cat. *Mol. Cytogenet.* 2015, **8**, 22.
10. Stachowiak M., Szczerbal I., Nowacka-Woszek J., Nowak T., Sowinska N., Lukomska A., Gogulski M., Badura M., Sklorz-Mencel K., Jagodka D., Nizanski W., Dzimira S., Switonski M.: Cytogenetic and molecular insight into the genetic background of disorders of sex development in seventeen cats. *Sci. Rep.* 2022, **12**, 17807.
11. Szczerbal I., Stachowiak M., Nowacka-Woszek J., Dzimira S., Szczepanska K., Switonski M.: Disorder of sex development in a cat with chromosome mosaicism 37,X/38,X,r(Y). *Reprod. Domest. Anim.* 2017, **52**, 914–917.
12. Balogh O., Berger A., Pieńkowska-Schelling A., Willmitzer F., Grest P., Janett F., Schelling C., Reichler I.M.: 37,X/38,XY Mosaicism in a Cryptorchid Bengal Cat with Müllerian Duct Remnants. *Sex. Dev.* 2015, **9**, 327–332.
13. Bugno-Poniewierska M., Kij B., Witarski W., Wojtaszek M., Radko A., Podbielska A., Szczerbal I., Murphy W.J.: Fertile male tortoiseshell cat with true chimerism 38,XY/38,XY. *Reprod. Domest. Anim.* 2020, **55**, 1139–1144.
14. Nowacka-Woszek J., Szczerbal I., Salamon S., Kociucka B., Jackowski H., Prozorowska E., Slaska B., Rozanska D., Orzelski M., Ochota M., Dzimira S., Lipiec M., Nizanski W., Switonski M.: Testicular disorder of sex development in four cats with a male karyotype (38,XY; SRY-positive). *Anim. Reprod. Sci.* 2014, **151**, 42–48.
15. De Lorenzi L., Banco B., Previderè C., Bonacina S., Romagnoli S., Grieco V., Parma P.: Testicular XX (SRY-Negative) Disorder of Sex Development in Cat. *Sex. Dev.* 2017, **11**, 210–216.
16. Padula A.M.: The freemartin syndrome: an update. *Anim. Reprod. Sci.* 2005, **87**, 93–109.
17. Iannuzzi A., Parma P., Iannuzzi L.: Chromosome Abnormalities and Fertility in Domestic Bovids: A Review. *Anim.* 2021, **11**, 802.
18. Bugno-Poniewierska M., Raudsepp T.: Horse Clinical Cytogenetics: Recurrent Themes and Novel Findings. *Anim.* 2021, **11**, 831.
19. Umeyama K., Nakano K., Matsunari H., Yamada T., Hasegawa K., Tang K., Tokuyama Y., Watanabe M., Nagaya M., Nagashima H.: The phenotype of a pig with monosomy X resembling Turner syndrome symptoms: a case report. *J. Reprod. Dev.* 2019, **65**, 231–237.
20. Szczerbal I., Nowacka-Woszek J., Dzimira S., Matuszczyk A., Iskrzak P., Switonski M.: Elevated incidence of freemartinism in pigs detected by droplet digital PCR and cytogenetic techniques. *Livest. Sci.* 2019, **219**, 52–56.

Prof. dr hab. Marek Świtonski, e-mail: marek.switonski@up.poznan.pl