



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap

# **Antimüllerskt hormon hos häst**

Klinisk relevans och hormonets variation med hästtyp, ålder och säsong

## **Anti-Müllerian hormone in horses**

Clinical relevance and its variation with breed, age and season

*Anne-Cathrine Jensen*

*Uppsala*

*2020*

*Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet*



# Antimüllerskt hormon hos häst

Klinisk relevans och hormonets variation med hästtyp, ålder och säsong

## Anti-Müllerian hormone in horses

Clinical relevance and its variation with breed, age and season

*Anne-Cathrine Jensen*

*Handledare: Bodil Ström Holst, SLU, institutionen för kliniska vetenskaper*

*Biträdande handledare: Ylva Hedberg Alm, SLU, Universitetsdjursjukhuset*

*Examinator: Johanna Lindahl, SLU, institutionen för kliniska vetenskaper*

*Examensarbete i veterinärmedicin*

**Omfattning:** 30 hp

**Nivå och fördjupning:** Avancerad nivå, A2E

**Kurskod:** EX0869

**Kursansvarig institution:** Institutionen för kliniska vetenskaper

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2020

**Elektronisk publicering:** <https://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** Antimüllerskt hormon, AMH, häst, granulosa-cellstumör, kryptorkism, säsongsvariation, åldersvariation

**Key words:** Anti-Müllerian hormone, equine, granulosa-cell tumour, cryptorchidism, seasonal variation, age variation

**Sveriges lantbruksuniversitet**  
**Swedish University of Agricultural Sciences**

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för kliniska vetenskaper



## SAMMANFATTNING

Antimüllerskt hormon (AMH) är ett konserverat glykoprotein-hormon. Hos hanar produceras det under fosterstadiet i höga koncentrationer då det medverkar till regressionen av de Müllerska gångarna, förstadiet till de honliga könsorganen. Hos honor produceras det inte alls under fosterstadiet, vilket gör att de Müllerska gångarna kvarstår och således utvecklas till livmoder, äggledare och äggstockar. I vuxen ålder produceras AMH hos handjur av sertoliceller och har betydelse för regleringen av differentieringen av Leydigceller. Hos hondjur produceras det av granulosa-celler och medverkar i regleringen av follikeldynamiken.

Hos häst har i tidigare studier angetts att det kliniska värdet av att analysera AMH är vid diagnostik av kryptorkism, kvarvarande testikelvävnad av annan anledning eller granulosa-cellstumör. Det har hos hingst påvisats en årstidsvariation i AMH-koncentrationerna, och hos sto en variation mellan åldersgrupper där gamla ston har lägre AMH-koncentrationer än unga ston.

Syftet med detta examensarbete var att undersöka det kliniska värdet i att analysera AMH, och om de referensvärden som används verkar stämma med de koncentrationer som uppmäts. Allt utifrån data insamlat på det kliniska kemiska laboratoriet på Universitetsdjursjukhuset (UDS) vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) mellan åren 2016–2019, totalt 505 prover. Dessutom skickades en enkät ut till de veterinärer och veterinärkliniker som skickat in blodprov för analys av AMH med frågor om varför de valde att göra analysen, om de kunde ställa diagnos utifrån den och om de använde fler diagnostiska metoder för att komma fram till diagnosen.

Resultaten visade att AMH-koncentrationen hos ston med normala AMH-koncentrationer ( $<4 \mu\text{g/L}$ ) påverkades signifikant ( $p=0,001$ ) av ålder. Det var också en signifikant interaktion mellan ålder och hästtyp ( $p=0,03$ ). AMH-koncentrationen ökade med stigande ålder, mer markant hos gruppen kallblod och ponny än hos varmblood. Det var ingen effekt av säsong, men andelen ston med onormala AMH-koncentrationer ( $>4 \mu\text{g/L}$ ) var signifikant högre ( $p=0,002$ ) under avelssäsong (17 %) än när det inte var avelssäsong (5 %). AMH-koncentrationerna varierade signifikant med provtagningsår ( $p=0,007$ ). I enkätstudien gick att utläsa att den vanligaste indikationen bakom AMH-analys var misstanke om äggstockstumör (55,7 %), näst vanligast var misstanke om kvarbliven testikelvävnad efter kastration (22,7 %) och tredje vanligast var misstanke om kryptorkism (15,3 %). Av dem som besvarade enkäten kunde 9,1 % ställa diagnosen granulosa-cellstumör, 4,6 % kvarbliven testikelvävnad efter kastration och 1,1 % ställde diagnosen kryptorkism. Utifrån resultaten kan ett antal slutsatser dras: Att AMH-koncentrationen i denna studie ökade med åldern står i skarp kontrast till resultaten i tidigare studier. Orsaken bakom är oklar. En tänkbar förklaring är en avvikande follikeldynamik hos de ston som provtagits. Den variation som ses mellan olika provtagningsår var liten, påverkade inte referensvärdena och saknade klinisk betydelse. Avslutningsvis kan konstateras att de referensvärden som används på det kliniska kemiska laboratoriet förefaller rimliga. Eventuellt skulle det kunna vara lämpligt att införa ålders- och rasspecifika referensvärden, men detta kräver i så fall vidare studier. Det kvarstår också frågetecken om AMH-koncentrationen hos vissa ston kan stiga över normal koncentration utan att de har granulosa-cellstumör, något som kan bli föremål för framtida studier.

## SUMMARY

Anti-Müllerian hormone (AMH) is a highly conserved glycoprotein hormone that in male fetuses is produced in high amounts, contributing to the regression of the Müllerian ducts. The Müllerian ducts are the precursor to the female genital organs. Among females the hormone is not produced during fetal life, and the Müllerian ducts therefore remain and develop to the tubular genitalia. Postnatally, the hormone is produced by Sertoli- and granulosa cells and influences the differentiation of Leydig cells in the testes and the regulation of follicles in the ovaries.

The reasons for analysing AMH are in most cases the suspicion of granulosa-cell tumour, of cryptorchidism or of leftover testicle tissue in an apparently castrated individual. In all three cases the concentration of AMH rises above normal levels. Among stallions a variation with season has been shown, and among mares a variation between old and young mares, with old mares having a lower concentration of AMH than young mares, has been shown.

The objectives of this study were to investigate the clinical value of analysing AMH, and if the reference values seem to be correct. The study is based on information from 505 samples analysed at The Clinical Pathology Laboratory at the University Animal Hospital (UDS) at the Swedish University of Agricultural Sciences (SLU) during the years 2016-2019, and on a questionnaire that was sent to veterinarians and veterinary clinics with questions about why the tests were done, if it was possible to draw any conclusions from the analysis and if they used more diagnostic methods to conclude on the diagnosis.

In mares with normal ( $<4 \mu\text{g/L}$ ) concentrations of AMH, the concentrations varied with age and the interaction between age and horse type (warmblood or cold-blood + ponies). AMH concentrations increased with age, most pronounced in cold-blood and ponies. There was no effect of season, but a significantly larger proportion of mares had abnormal AMH concentrations ( $<4 \mu\text{g/L}$ ) during breeding season (17%) than during non-breeding season (5%). There was statistically significant ( $p=0.007$ ) effect of year of sampling. The results of the questionnaire revealed that the most common indication for analysing AMH was suspicion of the patient having a granulosa-cell tumour, second in place was the suspicion of leftover testicle tissue after castration and in third place, suspicion of cryptorchidism. The reason for the suspicion was in most cases behavioural abnormalities. 9.1% of the respondents were able to diagnose granulosa-cell tumour, 4.6% leftover testicle-tissue after castration and 1.1% cryptorchidism.

In conclusion, the increasing concentration of AMH in old mares compared with young mares is the total opposite of earlier results. In the study population all mares may have clinical signs (abnormal oestrus, stallion like behaviour etc.), which can be a result of abnormal follicle dynamics. It is possible that different reference values for different breeds and would improve the accuracy of the interpretation, but this must be evaluated in further studies. Why the concentration of AMH among some mares rises above what is normal, without them having a granulosa cell tumour is not known and may also be evaluated in future studies.

## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

INLEDNING .....	1
LITTERATURÖVERSIKT .....	3
Generellt om Antimüllerskt hormon (AMH).....	3
AMH hos häst .....	5
Hingst och valack.....	5
Sto .....	6
Diagnostik av AMH.....	6
Äggstockstumörer hos sto.....	7
Anatomi och fysiologi.....	7
Tumörtyper.....	8
Tumörer utgående från groddbladen: Teratom och dysgerminom.....	8
Tumörer utgående från epitelet .....	9
Tumörer utgående från stromat: Granulosacellstumörer .....	9
Kryptorkism.....	10
Diagnostik .....	11
Kvarbliven testikelvävnad efter kastration .....	12
MATERIAL OCH METOD.....	14
Enkätundersökning .....	14
Urval av respondenter på enkäten .....	14
Utformning av enkäten.....	14
Utskick av enkäten .....	14
Bearbetning av data .....	15
Statistisk analys.....	15
Litteratursökning.....	15
RESULTAT .....	16
Ej analyserade prover .....	16
Resultat av multivariabel regressionsanalys, sammanfattning .....	16
Provtagningsår .....	16
Könsvariation.....	16
Variation hästtyp.....	18
Säsongsvariation .....	19
Samtliga ston med AMH-koncentrationer <4 µg/L .....	19
Säsongsvariation uppdelat efter hästtyp.....	21
Åldersvariation .....	22
Individuell åldersvariation samtliga ston .....	22
Samtliga ston med AMH-koncentration <4 µg/L .....	23
Åldersvariation uppdelat efter hästtyp .....	24
Enkätundersökning .....	25
Indikation bakom AMH-analysen.....	26
Grund för misstanke.....	26

Äggstockstumör .....	27
Kryptorkism .....	28
Misstanke om kvarbliven testikelvävnad efter kastration .....	28
Annan .....	28
Slutlig diagnos.....	28
Andra diagnostiska metoder.....	29
Behandling .....	30
Resultat av behandlingen .....	30
Individer med värden över referensvärdet .....	31
Ston .....	31
Handjur.....	31
Ston diagnostiserade med granulosa-cellstumör.....	33
Ston med förhöjd AMH-koncentration utan diagnos granulosa-cellstumör.....	33
DISKUSSION .....	34
POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING.....	37
LITTERATURFÖRTECKNING .....	39
BILAGA 1 – ENKÄTUNDERSÖKNING .....	1



## INLEDNING

Antimüllerskt hormon (AMH) har kommit att bli en allt oftare analyserad klinisk parameter inom veterinärmedicinen. Hormonet har främst betydelse för könsutvecklingen under fosterstadiet genom att det bidrar till att de Müllerska gångsystemen hos hanar tillbakabildas (Sjaastad *et al.*, 2010), men det spelar även roll i vuxen ålder genom att reglera follikeldynamiken och genom att hindra att sertoliceller genomgår meios för tidigt (Durlinger *et al.*, 1999; Lee & Donahoe, 1993).

Inom humanmedicin används glykoprotein-hormonet som en markör för funktion i äggstockar - respektive testiklar. Bland annat används det för att mäta kvarvarande oocytereserv hos kvinnor och för att undersöka eventuell Disorder of Sex Development (DSD) hos pojkar (Carmina *et al.*, 2019; Ahmed & McNeilly, 2014). Liknande betydelse har tillskrivits hormonet även inom veterinärmedicin, och idag ligger dess kliniska användbarhet hos hund, katt och häst främst i utredningar som rör granulosa- eller sertolicellsfunktionen, exempelvis om tikar eller honkatter har äggstocksvävnad kvar (Place *et al.*, 2011), vid misstanke om kryptorkism eller sertolicellstumör samt vid misstanke granulosa-cellstumör (GCT) hos ston (Claes & Ball, 2016; Holst & Dreimanis, 2015). Hos nötkreatur kan AMH mätas för att avgöra kapaciteten att producera embryon vid embryo transfer (Monniaux *et al.*, 2010).

Granulosa-cellstumör är hos häst den sjätte vanligaste tumören och den vanligaste tumören i äggstockarna (Sundberg *et al.*, 1977). AMH-koncentrationen ökar när mängden AMH-producerande granulosa-celler ökar (Ball *et al.*, 2013). Tumören ger ofta tydliga kliniska tecken hos stona i form av exempelvis aggressivt beteende, anöstrus eller persistenta brunster (Bosu *et al.*, 1982; Meagher *et al.*, 1978; Cotchin, 1977). Utöver att användas i diagnostiken av granulosa-cellstumörer finns även studier som visat att AMH, såsom inom humanmedicin, kan användas för uppskattning av ett stors kvarvarande oocytereserv (Claes *et al.*, 2015), även om användningen inom detta område inte är spridd i Sverige.

Hos handjur produceras AMH av sertoliceller och kan därför påvisas hos både intakta individer och hos kryptorkider (Claes *et al.*, 2013). Kryptorkism är den vanligaste hanliga anomalin i reproduktionsorganen och prevalensstudier har funnit att det förekommer hos så många som 8,5 % av hingstarna (Hayes, 1986; Priester *et al.*, 1970).

På det klinisk-kemiska laboratoriet på Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) dominerar häst som djurslag i antal analyserade prover för AMH, med hund på andraplats. Referensintervallet som används är för normalt prov för sto är ett värde  $<4 \mu\text{g/L}$ , där ett värde  $>20 \mu\text{g/L}$  talar för GCT. För värden mellan  $4\text{--}20 \mu\text{g/L}$  anses det svårare att dra säkra slutsatser. För handjur är ett värde  $>1 \mu\text{g/L}$  indikativt för att testikelvävnad finns.

Syftet med examensarbetet är att undersöka det kliniska värdet av att analysera AMH på häst för att diagnostisera granulosa-cellstumör hos sto respektive kryptorkism hos hingst. På hingst finns det beskriven en säsongsvariation i AMH-koncentrationen (Claes *et al.*, 2013). Huruvida liknande tendens kan ses hos sto finns inte beskrivet, varför examensarbetet syftar till att undersöka om koncentrationerna av AMH hos sto kan variera med säsong. Dessutom undersöks

om det föreligger åldersvariation och variation efter hästtyp. Detta för att se om behov av säsong-, ålders och/eller rasspecifika referens-intervall kan föreligga.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Generellt om Antimüllerskt hormon (AMH)

Antimüllerskt hormon (AMH), också kallat Müllerian inhibiting substance (MIS) eller Müllerian inhibiting factor (MIF), är ett hormon tillhörande transforming growth factor  $\beta$  (TGF  $\beta$ )-familjen (Josso *et al.*, 1998). Hormonerna i TGF  $\beta$ -komplexet är alla glykoprotein som är involverade i reglering av tillväxt och differentiering. Hormonerna är homologa genom att de alla har en konserverad s.k. C-terminal av cystein. Proteinen i genfamiljen bildas som dimera prekursorer som genomgår multipla processer för att aktiveras, för AMH inkluderande bland annat proteolytisk klyvning av en disulfidbindning för att de bioaktiva C-terminalfragmenten ska frisättas (Lee & Donahoe, 1993). Hos hanar produceras höga koncentrationer av AMH i sertoliceller från det att differentieringen av testiklar startar under fosterstadiet till puberteten, varefter det når en basalnivå. Hos honor produceras AMH i låga koncentrationer av granulosa-celler från födseln och så länge reproduktiv förmåga upprätthålls (Josso *et al.*, 1998).

I fosterstadiet har AMH betydelse för könsutvecklingen. Gonaderna för båda kön utvecklas från s.k. genital ridges, lokaliserade dorsalt i buken. Från ridgerna bildas de Müllerska och Wolffska gångarna. Beroende på fostrets genetiska kön tillbakabildas ett av dessa gångsystem – de Wolffska gångarna utvecklas till de hanliga tubulära reproduktionsorganen medan de Müllerska utvecklas till motsvarande för honor. Strax efter att de genitala ridgerna utvecklats bildas primordiala könsceller från gulesäcken, ämnade att bli antingen spermier eller ägg. När testiklar utvecklas börjar de primordiala könscellerna producera och utsöndra testosteron och AMH. Bildas båda hormon utvecklas fostret till en hane genom att, under påverkan av testosteron, de Wolffska gångarna utvecklas till de hanliga reproduktionsgångarna medan AMH orsakar regression av de Müllerska gångarna. I frånvaro av både testosteron och AMH går utvecklingen mot att fostret får honligt kön (Sjaastad *et al.*, 2010).

Differentiering till hona sker alltid i frånvaro av maskuliniserande faktorer (d.v.s. testosteron och AMH), även hos genetiskt hanliga individer (Sjaastad *et al.*, 2010). Experimentellt har forskare visat att möss med genetiskt anlag att utvecklas till hanar men som saknar genen som krävs för att producera AMH föds med både hanliga och honliga könsorgan (Behringer *et al.*, 1994). I ett försök *in vitro* med fetala ovarier från får och råttor påvisades att när ovarierna utsattes för AMH minskade antalet könsceller och gonadens volym. Gonadens struktur förändrades även genom att strängliknande strukturer växte in i blastemat och på ytan bildade bindvävsceller en hinna som påminde om tunica albuginea (Vigier *et al.*, 1987). AMH är, i likhet med det redan nämnda, även avgörande för fenomenet Freemartinism. En studie konstaterade att hos fetala Freemartin-kvigor är AMH konstant högt och koncentrationerna är nära korrelerade med koncentrationen AMH hos den hanliga tvillingen. Detta indikerar att hormonet är med och påverkar att kvigkalvens könsorgan inte utvecklas normalt utan antar maskulina drag (Vigier *et al.*, 1984).

Hos hanfoster fortsätter AMH att produceras av sertolicellerna hela dräktigheten. Könscellerna går dock så småningom in i arrest och slutar dela sig. Forskare har en teori om att AMH här spelar roll för att förhindra att sertolicellerna går vidare till meiotisk profas (Lee & Donahoe, 1993). I likhet med detta konstaterade Racine *et al.* (1998) i en studie att koncentrationerna av AMH är höga prenatalt, även efter att de Müllerska gångarna tillbakabildats, vilket indikerar

att AMH kan tillskrivas fler funktioner än enbart verkan på de Müllerska gångsystemen. I försök med hanliga transgena möss som hade ett överuttryck av AMH, blockerade hormonet differentieringen av prekursorer till Leydigceller. AMH fick även Leydigcellerna att uttrycka mindre cytokrom P450, ett enzym bl.a. delaktigt i produktionen av steroider, detta tack vare att Leydigcellerna har receptorer för AMH. I förlängningen leder detta till mindre steroidproduktion, däribland testosteron (Racine *et al.*, 1998).

Hos hondjur uttrycks AMH av växande folliklar efter födseln. Hos honmöss kunde forskare i en studie detektera AMH först efter födseln och produktionen var strikt lokaliserad till granulosaacellerna. Forskarna diskuterar att AMH spelar roll genom att hormonet hindrar att oocyter går in i meios. Samtidigt, när koncentrationen av AMH ökar blir oocyten både större och mer mogen. AMH konstaterades i den aktuella studien uttryckas i follikeln till dess att oocyten genomgår den första meiotiska delningen strax före ovulation (Munsterberg & Lovell-Badge, 1991). I en annan studie kunde forskarna tillskriva AMH en viktig roll i rekryteringen av primordialfolliklar (oocyten omgiven av ett enkelt lager av platta granulosaaceller). Transgena honmöss som saknade uttryck av AMH rekryterade primordiala folliklar i högre takt än i möss av vildtyp. Därmed tömmer de transgena mössen sitt lager av primordialfolliklar snabbt och östruscykeln upphör i en yngre ålder, och AMH kunde därmed tillskrivas en bromsande och reglerande funktion (Durlinger *et al.*, 1999). I ett försök *in vitro* hade AMH-behandlade äggstockar 40 % färre växande folliklar jämfört med kontrollen. Dessutom hade de AMH-behandlade äggstockarna lägre uttryck av inhibin. Forskarna drar slutsatsen att AMH fungerar som inhibitorisk tillväxtfaktor i de tidiga stadierna av follikulogenes (Durlinger *et al.*, 2002). AMH gör också folliklarna mindre känsliga för follikelstimulerande hormon (FSH) och de växer därmed inte till lika mycket, vilket begränsar antalet aktivt tillväxande folliklar (Visser *et al.*, 2007; Durlinger *et al.*, 2001).

Beträffande AMH-koncentrationerna postnalt har det hos nötkreatur visats att nyfödda tjurkalvar och freemartinkvigor har höga koncentrationer AMH, medan nyfödda kvigkalvar har omkring sju gånger lägre koncentrationer. Hos tjurkalvarna fortsatte koncentrationerna vara höga upp till fem månaders ålder varefter de minskade och nådde en bottenivå efter cirka nio månaders ålder. Hos freemartindjuren däremot minskade AMH-koncentrationen redan första veckan efter födseln vilket tros indikera att hormonet inte är endogent producerat utan har genererats från den hanliga tvillingen och passerat till kvigkalven via kärlanastomoser under fosterstadiet. Efter nio dagar kunde ingen signifikant skillnad i AMH-koncentration påvisas mellan freemartin-kvigor och normala kvigkalvar. Hos kvigkalvar kan AMH konstateras i låga och jämna koncentrationer hela det första levnadsåret fram till könsmognad (Rota *et al.*, 2002).

Det finns också ett samband mellan antral follicular count (AFC), d.v.s. antalet folliklar 6–20 millimeter i diameter, och koncentrationen AMH i blodet hos kor. Koncentrationen AMH var sex gånger högre hos kor med högt AFC jämfört med kor med lågt AFC under follikelvågorna. Under kornas två till tre follikelvågor under en brunstcykel var medelkoncentrationen av AMH korrelerad till det högst uppmätta AFC under cykeln och till medelvärdet av AFC under hela cykeln. AMH var också positivt korrelerat till ovariestorlek och antalet friska folliklar. AMH kan därför vara en markör att mäta för att förutse unga kors reproduktionspotential (Ireland *et al.*, 2008).

## AMH hos häst

### *Hingst och valack*

Precis som motsvarande hos nötkreatur, har hingstföl vid födseln högre koncentrationer av AMH än stoföl (Scarlet *et al.*, 2018; Claes *et al.*, 2013; Rota *et al.*, 2002). En studie av Scarlet *et al.* (2018) följde 30 individer, 14 ston och 16 hingstar, från födseln till två års ålder. AMH-koncentrationen var under hela tidsspannet signifikant högre hos hingstarna än hos stona, detta oberoende av hingstarnas testikelutveckling. Hos hingstarna varierade AMH-koncentrationen mer än hos stona. Vid ett års ålder sågs en minskning av AMH hos samtliga hingstar med normal testikelutveckling. AMH-nivån var hos hingstarna vid två års ålder negativt korrelerad med total testikelvolym (TTV) (Scarlet *et al.*, 2018). Ball *et al.* (2008) kunde med immunohistokemi fastställa att fetala sertoliceller uttrycker AMH i hög grad och att uttrycket minskar fram till ett års ålder. Hos vuxna hingstar kunde AMH-uttryck inte påvisas alls vilket författarna relaterar till ökad meios och högre halter testosteron i testiklarna när hingsten blivit köns mogen (Ball *et al.*, 2008a).

Hos hingstar är AMH-koncentrationen högre före än efter köns mognad, medan det motsatta förhållandet råder för testosteron. Det har också gått att påvisa en säsongsmässig variation i AMH-koncentrationen hos hingst, där koncentrationen är signifikant högre i maj och juni än i september till februari. En liknande variation har även setts i testosteronkoncentrationen som konstaterats vara högre under april, maj och juli än i oktober. Valacker har AMH-koncentrationer som är signifikant lägre än hos intakta hingstar. AMH hos valacker har uppmätts vara under eller precis tänga detektionsgränsen, vilket starkt indikerar att testiklarna är enda källan till AMH hos hästar av hankön (Claes *et al.*, 2013).

Beträffande AMH hos kryptorkida hingstar har flera studier konstaterat att AMH-uttryck finns även hos dem, och att uttrycket rentav är högre än hos hingstar med normal testikelutveckling. Scarlet *et al.* (2018) kunde påvisa att hingstar med kryptorkism hade ökande koncentrationer AMH mellan ett och två års ålder, i kontrast till normala hingstar som under samma åldersspann hade minskande nivåer (Scarlet *et al.*, 2018). Claes *et al.* (2013) uppmätte en medelkoncentration av AMH hos 41 kryptorkida hingstar till strax över 30 µg/L, medan medelkoncentrationen hos de 15 ingående intakta hingstarna uppmättes till 15 µg/L (Claes *et al.*, 2013).

I en studie uttrycktes AMH i högre grad hos individer med fler intakta sertoliceller jämfört med de som i högre grad hade degenerativa förändringar, vilket forskarna kopplat till frånvaro av lokal testosteronutsöndring och/eller frånvaro av normal spermatogenes (Ball *et al.*, 2008a).

Kopplingen mellan uttryck av AMH och andra testikelförändringar, förutom kryptorkism, har inte varit lika tydlig. Gonader från hingstar med DSD har konstaterats uttrycka måttliga mängder AMH, dessa gonader hade heller inga spår av spermatogenes. Hos neoplastiskt förändrade testiklar fanns AMH-uttryck i maligna sertolicellstumörer och i en blandtumör mellan sertoli- och Leydigceller. Däremot uttrycktes AMH inte i seminom eller teratom (Ball *et al.*, 2008a).

## Sto

Stoföl har vid födseln lägre koncentrationer AMH än hingstföl (Scarlet *et al.*, 2018; Claes *et al.*, 2013). Studien som följde ston från födseln fram till två års ålder konstaterade att AMH-koncentrationen hos ston under den aktuella tidsperioden var som högst vid 24–28 veckors ålder (Scarlet *et al.*, 2018). Hos ston i vuxen ålder har AMH-koncentrationen visats vara lägre hos gamla ston (19–27 år) än hos unga (3–8 år) och medelålders (9–18 år) ston. Hos unga ston var medelkoncentrationen av AMH 0,29 µg/L, hos medelålders 0,47 µg/L och hos gamla ston 0,21 µg/L (Claes *et al.*, 2015). AMH-koncentrationen är under gränsen för detektion hos ston som genomgått ovariektomi (Almeida *et al.*, 2011), och kan även vara det hos gamla ston med lågt AFC (Claes *et al.*, 2015).

Scarlet *et al.* konstaterade att AMH-koncentrationen vid 24–28 veckors ålder positivt kunde korreleras till AFC vid två års ålder (Scarlet *et al.*, 2018). Kopplingen mellan AMH och AFC har, i likhet med hos nötkreatur (Ireland *et al.*, 2008), även visats hos vuxna ston. Detta i en studie av Claes *et al.* (2015) som visade att hos gamla ston (19–27 år) är AMH-koncentrationen signifikant relaterad till AFC. Sambandet fanns även hos medelålders ston (9–18 år), men var inte lika starkt. Hos unga ston (3–8 år) kunde inget samband påvisas mellan AMH och AFC. Koncentrationen AMH var dock inte signifikant högre hos ston med större antal folliklar >20 millimeter, vilket Claes *et al.* (2015) menar speglar att AMH-produktionen avtar efter att folliklarna selekterats. Värdet av resultatet är att AMH kan vara en markör för ett stors reproduktiva ålder (Claes *et al.*, 2015).

En studie som undersökte ovarier från sto med immunohistokemi kunde påvisa att AMH-uttrycket i ovarierna ökade med antalet lager granulosaaceller i folliklarna. I folliklar >30 millimeter i diameter minskade dock AMH-uttrycket, och folliklar som börjat gå i atresi hade bara litet uttryck av AMH. Inget AMH-uttryck kunde påvisas i folliklar med degenererade granulosaaceller eller i gulkroppar. I ovarier från ston med GCT fäste antikropparna in på alla snitt (Ball *et al.*, 2008b).

Koncentrationen AMH ändras inte signifikant med cyklusstadium eller dräktighet (Almeida *et al.*, 2011). Detta till skillnad från inhibin vars koncentrationer signifikant förändras både under östruscykeln och under dräktighet (Nagamine *et al.*, 1998; Nambo *et al.*, 1996). Almeida *et al.* (2011) undersökte AMH-koncentrationen hos ovariektomerade ston och hos friska, cykliska ston. Hos stona som var ovariektomerade var medelkoncentrationen AMH  $0,06 \pm 0,003$  µg/L (spridning 0,05–0,07 µg/L), medan den hos de friska cykliska stona var  $0,96 \pm 0,08$  µg/L (spridning 0,22–2,94 µg/L) utan signifikant effekt av cyklusstadium. Hos dräktiga ston uppmättes medelkoncentrationen av AMH till  $0,72 \pm 0,05$  µg/L (spridning 0,26–2,61 µg/L).

## Diagnostik av AMH

I huvudsak två olika *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA)-test har historiskt sett använts i kommersiell analys av AMH inom humanmedicin: Ett från Diagnostic System Lab (DSL) och ett från Immunotech (IOT) (Nelson & La Marca, 2011). ELISA är en immunologisk metod där antikroppar och antigen bildar komplex vilket gör att en signal, oftast genererad från en enzymatisk reaktion, förstärks eller försvagas. Signalens intensitet avgörs av mängden antigen i provet (Wild, 2013).

DSL- och IOT-testen använder olika primära antikroppar mot AMH (Nelson & La Marca, 2011). IOT innehåller monoklonala antikroppar riktade mot AMH:s N-terminal respektive C-terminal (Groome *et al.*, 2011; Long *et al.*, 2000). DSL-metoden använder två monoklonala antikroppar riktade mot N-terminalen (Groome *et al.*, 2011; Al-Qahtani *et al.*, 2005). Det har i studier visats att IOT ger högre värden för AMH än DSL (Nelson & La Marca, 2011).

Från IOT- och DSL-metoderna utvecklades 2010 en ny metod: AMH Gen II. I denna används två monoklonala antikroppar riktade mot C-terminalen i hormonet. Då C-terminalen är mer biologiskt stabil än N-terminalen är Gen II inte lika känslig för proteolys i proven som de föregående metoderna. Dessutom kan analysen med högre säkerhet än tidigare metoder användas för att mäta AMH från flera olika däggdjur, till skillnad från IOT och DSL, som var framtagna för humanmedicin (Kumar *et al.*, 2010). En studie som jämförde alla tre metoder med varandra konstaterade att uppmätta värden korrelerade väl, dock uppnås högre värden med Gen II jämfört med de andra metoderna (Li *et al.*, 2012). En jämförelse mellan Gen II och DSL uppmätte 40 % högre värden för Gen II (Wallace *et al.*, 2011). Då olika analysmetoder används i olika studier bör direkt applicering av cut-off värden göras med stor försiktighet, och behovet av en internationell standard för AMH-diagnostik har lyfts (Li *et al.*, 2012). IOT och Gen II använder enheten ng/ml, medan DSL använder pmol/l (Nelson & La Marca, 2011).

På senare år har automatiserade metoder utvecklats (Roche Elecsys och Beckman Coulter Access). Dessa har visat sig ha högre sensitivitet än Gen II (Van Helden & Weiskirchen, 2015), dock saknas studier om automatiserade metoder för analys av prover från häst.

Inom veterinärmedicin har validerade test länge saknats, men 2011 visade Place och medarbetare (Place *et al.*, 2011) att DSL-metoden framgångsrikt skiljde på kastrerade och icke-kastrerade tikar. Två år tidigare använde Rico och medarbetare (Rico *et al.*, 2009) DSL-testet i sin studie som påvisade att AMH-koncentrationen hos kor indikerade hur väl de svarade på behandling för superovulation, liksom hur många små antrala gonadotropinresponsiva folliklar korna hade. Sedan 2013 finns en ELISA speciellt framtagen för olika djurslag, däribland häst, av kemiföretaget Ansh Labs (Kumar *et al.*, 2013). Hittills gjorda studier om AMH inom veterinärmedicin använder olika metoder för analysen, och då det i likhet med inom humanmedicinen saknas en internationell standard kan det medföra tolkningsvårigheter studier emellan (Holst, 2017).

Vid det klinisk kemiska laboratoriet på Universitetsdjursjukhuset, SLU, laboratoriet där data till resultatdelen i uppsatsen hämtats, används Beckman coulter Gen II som analysmetod.

## **Äggstockstumörer hos sto**

### ***Anatomi och fysiologi***

Hästens äggstockar är belägna dorsalt i bukhålan, kranioventralt om iliumvingarna ungefär i plan med femte lumbalkotan. Höger äggstock är ofta placerad något mer kranialt än vänster äggstock. De omges av ett tjockt mesovarium som gör äggstockarna tämligen fria i sin position. Hästar har stora äggstockar i relation till andra djurslag och kan mäta upp emot 10 centimeter i längdsnitt. Äggstockarna är njurformade med en ovulationsgrop där mogna folliklar rupturerar. Inuti äggstocken är folliklar och gulkroppar belägna centralt, runt ovulationsgropen, och dessa

är omgivna av ett nätverk av rikt vaskulariserad bindväv. Detta till skillnad från andra djurslag där kärl och bindväv finns centralt i äggstocken och folliklar och gulkroppar perifert (Dyce *et al.*, 2010). De celltyper som finns i ovarierna är epitelceller som bildar ytskiktet, under detta finns ett underliggande stroma innehållande könscellerna (oocyterna) och follikelceller (Zachary & McGavin, 2012). Follikelcellerna utgörs av två huvudsakliga celler: granulosa- och thecaceller, de båda utvecklas från s.k. primordiala follikelceller. Granulosacellerna linjerar insidan av follikeln medan thecacellerna linjerar dess utsida. Lagren skiljs åt av ett basalmembran där granulosacellerna ej är kärlförsörjda medan det yttre lagret, thecacellerna, är kärlförsörjda. Thecacellsdraget i sin tur utgörs av ett inre endokrint lager och ett yttre stromalt lager (McCue, 1998b; Vogelsang *et al.*, 1987).

En follikelfas börjar med att primordiala folliklar utvecklas till primära och vidare till sekundära folliklar i takt med att de växer och cellerna i follikeln blir mer specialiserade. När de sekundära folliklarna blivit tillräckligt stora börjar granulosacellerna producera vätska innehållande näringsämnen och enzymer viktiga för oocyten och för ovulation. Vätskan ansamlas i hålrummet och en antral (eller tertiär) follikel har bildats. Såväl granulosa- som thecacellerna producerar också hormon, detta under inverkan av FSH respektive LH. Thecacellerna producerar testosteron som diffunderar till granulosacellerna där det omvandlas till östrogen. Granulosacellerna producerar också inhibin. De folliklar som börjar producera östradiol kallas rekryterade folliklar. Den ökande östrogennivån gör att folliklarna utvecklas vidare, några av dem till s.k. selekterade folliklar. Av de selekterade folliklarna selekteras en eller några få till att bli en dominant follikel som så småningom ovulerar. Folliklar som inte är dominanta går vanligen i atresi (Sjaastad *et al.*, 2010).

### **Tumörtyper**

Det finns tre huvudgrupper av äggstockstumörer hos däggdjur: Neoplasier utgående från köns-cellerna (dysgerminom och teratom), neoplasier utgående från stromat i gonaderna (granulosa-cellstumörer och thecom) och epiteliala neoplasier (adenom och carcinom). I de flesta fall är neoplasierna benigna och ovarierna är sällan målorgan för metastaser från neoplasier i andra organ (Zachary & McGavin, 2012).

#### *Tumörer utgående från groddbladen: Teratom och dysgerminom*

Teratom är tumörer som utgår från pluripotenta stamceller och består av celler från minst två av de tre embryonala groddbladen: ektoderm, mesoderm och endoderm. I dessa tumörer kan således förekomma hår, nervvävnad, brosk, ben, fett och respiratoriskt epitel, med fler vävnader. Teratom är ovanliga, vanligen benigna och väldifferentierade (Zachary & McGavin, 2012). De anges vara den näst vanligaste tumören i äggstockarna hos sto (Clark, 1975). I en reviewartikel från 1977 konstaterades att det fanns enstaka rapporter om ovarieterat om hos ston, men att majoriteten av äggstockstumörerna är granulosacellstumörer (Cotchin, 1977). Teratom producerar inte hormon och således fortsätter stoet att cykla normalt då den icke-tumöromvandlade äggstocken inte påverkas (McCue *et al.*, 2006).

Dysgerminom är även de ovanliga, i en studie med 30 ston med onormala äggstockar diagnostiserades det endast i ett av fallen. Det aktuella stoet presenterades med kliniska tecken innefattande persisterande brunst och en förstörd äggstock (Bosu *et al.*, 1982). Ett dys-



germinom utgår från omogna könsceller och motsvaras av seminom hos handjur (Zachary & McGavin, 2012). Liksom teratom är dysgerminom vanligen hormonellt inaktiva (McCue, 1998a), även om enstaka fall av hormonproducerande dysgerminom har rapporterats (Knottenbelt *et al.*, 2015). Dysgerminom kan metastasera, oftast till njurar, urinledare, binjurar och renala lymfknotor. Även invasiv växt i *Vena cava* har rapporterats. Tumören växer unilateralt och kan bli upp emot 45 cm i diameter (Knottenbelt *et al.*, 2015).

#### *Tumörer utgående från epitelet*

Det epitel som utlinjerar äggstockarna, liksom alla andra organ i bukhålan, kan tumörvandlas och således kan adenom (benigna) och carcinom (maligna) uppstå (Zachary & McGavin, 2012). Den vanligaste epitheliala tumören i äggstockarna hos sto är cystadenom. Dessa är vanligen hormonellt inaktiva och förekommer unilateralt (McCue, 1998a). Vanligtvis utgår cystadenom från ovulationsgropen på äggstockarna (Held *et al.*, 1982) eller från resterna av fosterstadiets njurtubuli i äggstockens medulla – *rete ovarii* (Zachary & McGavin, 2012; McEntee, 1990). Stona fortsätter cykla normalt och kan till och med bli dräktiga tack vare normal funktion hos den kontralaterala äggstocken (McEntee, 1990). Även fall av adenocarcinom har rapporterats (Vancamp *et al.*, 1989). Dessa har visat sig förekomma bilateralt och kunna metastasera, och i aktuella studier fanns metastaser i lymfknotor i abdomen och thorax respektive mjälte, omentet och diafragma (Browne *et al.*, 2016; Pauwels *et al.*, 2012).

#### *Tumörer utgående från stromat: Granulosacellstumörer*

Tumörer som utgår från stromat i äggstockarna är vanligen tumörer som utgörs av både granulosa- och thecaceller. Incidensen av tumörtypen ökar med åldern, men de förekommer även hos yngre djur (Schlafer & Foster, 2016). I texten kommer den mer generella termen granulosacellstumör (GCT) användas.

Granulosacellstumörer anges vara den vanligaste äggstockstumören hos stora djur. De är unilaterala och kan bli upp emot 30 centimeter i diameter (Zachary & McGavin, 2012; Clark, 1975). Granulosacellstumörer är den totalt sett sjätte vanligaste tumörformen hos häst och svarade i en studie för 2,5 % av tumörerna (Sundberg *et al.*, 1977). En prospektiv studie tittade på olika abnormaliteter som kunde associeras till äggstockar med avvikande storlek och ston med avvikande cyklicitet, beteende och infertilitet. Forskarna kunde diagnostisera granulosacellstumörer hos 14 av stona och teratom respektive dysgerminom i vardera ett fall. Abnormaliteter hos ston som inte hade tumörer inkluderade bland annat cystor av olika slag och hemorragiska folliklar (Bosu *et al.*, 1982).

Kliniska tecken som associeras med granulosacellstumörer är varierande grad av persistenta brunster, anöstrus, virilism och aggressivitet (Bosu *et al.*, 1982; Meagher *et al.*, 1978; Cotchin, 1977). Genom att operera bort den påverkade äggstocken återgår de flesta individer till normal cyklicitet (Cotchin, 1977). Hos ston med granulosacellstumör är den kontralaterala äggstocken oftast liten och inaktiv (Bosu *et al.*, 1982).

Till skillnad från tidigare nämnda tumörformer är granulosacellstumörer ofta hormonellt aktiva och kan producera såväl inhibin (Ellenberger *et al.*, 2007; Bailey *et al.*, 2002; Piquette *et al.*, 1990) som AMH (Ball *et al.*, 2008b). Traditionellt sett har ökade koncentrationer inhibin och/eller testosteron i kombination med låg koncentration progesteron använts för endokrin

diagnostik av granulosa-cellstumörer (Watson *et al.*, 2010; Bailey *et al.*, 2002; Stabenfeldt *et al.*, 1979). Det faktum att tumören producerar inhibin minskar frisättningen av follikelstimulerande hormon (FSH) från hypofysen vilket leder till atrofi av den icke-tumöromvandlade äggstocken (Ellenberger *et al.*, 2007). I en retrospektiv studie där forskarna jämförde koncentrationer av AMH, inhibin och testosteron och kopplade dem till om granulosa-cellstumör hos den aktuella patienten diagnostiserats eller inte, visade sig AMH vara en mer sensitiv markör för granulosa-cellstumörer jämfört med analys av inhibin, testosteron eller de båda kombinerat (Ball *et al.*, 2013). AMH-koncentrationen har konstaterats vara högre för ston med granulosa-cellstumörer än hos cykliska och dräktiga ston (Almeida *et al.*, 2011). Ball och medarbetare (Ball *et al.*, 2013) uppmätte en mediankoncentration av AMH på 66,0 µg/L hos ston som diagnostiserats med granulosa-cellstumör. I samma studie uppmättes mediankoncentrationen till 0,30 µg/L hos friska, icke-dräktiga ston, och till 0,22 µg/L hos dräktiga ston.

Vissa studier har visat på att tumören kan producera testosteron (Hinrichs & Hunt, 1990; Stabenfeldt *et al.*, 1979), medan andra inte har funnit detta (Meinecke & Gips, 1987; Meagher *et al.*, 1978; Stickle *et al.*, 1975). McCue *et al.* (2006) drar slutsatsen att ston med granulosa-cellstumörer som har förhöjda testosteronnivåer visar aggressivt beteende, medan ston med granulosa-cellstumörer med normala testosteronnivåer visar anöstrus eller persistent brunst. Avgörande för testosteronproduktion anges vara att även thecaceller finns i tumören (McCue *et al.*, 2006). Östradiol är ytterligare ett hormon som verkar produceras i varierande grad av granulosa-cellstumörer (Meinecke & Gips, 1987). Detta kan härledas till att det verkar som att granulosa-celler som tumöromvandlats besitter låg förmåga att aromatisera androgener till östradiol p.g.a. lågt innehåll av enzymet cytokrom P-450 som är essentiell för processen (Watson & Thomson, 1996). Progesteron är ett hormon som ständigt är lågt hos ston med granulosa-cellstumör, vilket är förenligt med frånvaron av luteiniserad vävnad (Stabenfeldt *et al.*, 1979).

## **Kryptorkism**

Kryptorkism är den vanligaste anomalin i reproduktionsorganen hos handjur (Zachary & McGavin, 2012) och så också hos häst (Priester *et al.*, 1970). En hingst som är kryptorkid benämns ofta ”klapplingst” (Nationalencyklopedin u.å.). Tillståndet innebär att den ena eller båda testiklarna inte vandrar ner från sublumbalt, där de bildas under fosterstadiet, till scrotum, utan istället ligger kvar i bukhålan eller ljumskkanalen (Lindskog, 2008). Det är vanligare med uni- än bilateral kryptorkism och hos hingst är det en jämn fördelning mellan höger- och vänstersidig kryptorkism. Testikeln som inte är nedvandrad finns vanligen i abdomen nära den inre inguinalringen, i inguinalkanalerna eller alldeles subkutant i anslutning till den yttre inguinalringen, men den kan finnas längs med hela testikelns väg för nedvandringen – från kaudalt om njuren till scrotum (Zachary & McGavin, 2012). Då temperaturen i bukhålan är högre än i scrotum är en kryptorkid testikel vanligtvis inte kapabel att producera normala spermier (Dyce *et al.*, 2010).

Kryptorkism är i vissa fall ett övergående tillstånd, upp till ett års ålder kan testiklarna vandra ned till scrotum, och det finns rapporter om senare nedvandring än så. Eftersom vaginalringen (anulus inguinalis superficialis) kontraherar strax efter födseln är sådana sent nedvandrande

testiklar vanligen lokaliserade i inguinalkanalen. En för hingst unik omständighet under testiklarnas nedvandring till scrotum under fosterstadiet är en temporär kraftig storleksökning hos testiklarna mellan dag 100 och 250 under fosterstadiet som inte sker hos andra husdjur. Omkring dag 120 är testiklarna nedvandrade till i närheten av vaginalringen och är här till dess att testiklarna minskat i storlek. Framme i scrotum är testiklarna i normalfallet först i nära anslutning till födseln (Dyce *et al.*, 2010).

I en stor retrospektiv studie förekom kryptorkism hos 5009 av 58 559 hingstar vilket ger en total prevalens på omkring 8,5 %. Den åldersspecifika prevalensen för två till tre år gamla hingstar var 17 %. Av de kryptorkida hingstarna kastrerades 92 %. Sett till rasfördelning var den relativa risken för kryptorkism signifikant lägre hos engelskt fullblod, travhästar, Morganhästar, Tennessee Walking horse och arabiskt fullblod. Däremot var den relativa risken för kryptorkism signifikant högre hos Percheron, American Saddle horse, Quarterhästar, ponnyer och korsningsraser (Hayes, 1986).

Flera teorier om bakomliggande orsaker till kryptorkism finns. En av dessa teorier är att gubernaculum testis inte vidgar vaginalringen och inguinalkanalen tillräckligt för att testikeln ska få plats på sin väg till scrotum. En annan rör att gubernaculum testis vidgar vaginalringen och inguinalkanalen tillräckligt, men testikeln minskar inte i storlek tillräckligt mycket för att kunna passera till scrotum. Patologier och utvecklingsrubbningsraser såsom cystor eller teratom nämns också som möjliga orsaker till kryptorkism, liksom att testikelns suspensoriska ligament inte tillbakabildas (Mueller & Parks, 1999).

Hos människa och hund är risken att utveckla testikelcancer ökad vid kryptorkism (Giwercman *et al.*, 1987; Reif *et al.*, 1979). Hos häst föreligger inte samma starka samband (Caron *et al.*, 1985). I Hayes studie (1986) hade 14 av 5009 (0,3 %) kryptorkida individer testikelcancer (Hayes, 1986). Dock kastreras merparten av hingstarna i ung ålder, varför många neoplasier säkerligen inte hinner utvecklas och jämförelser med människa och häst blir därför problematiska (Schumacher, 1999).

### **Diagnostik**

Ett flertal olika metoder har använts för diagnostik av kryptorkism. Testosteronanalys efter injektion av humant koriongonadotropin (hCG) är det som historiskt använts som standardtest (Cox, 1975). Humant koriongonadotropin är ett hormon som stimulerar Leydigceller att producera testosteron (Isidori *et al.*, 2008). Cox *et al.* (1973) visade att valacker hade konsekvent låga nivåer av testosteron, såväl före som efter injektion med hCG. Den enda ingående hingsten i försöket hade högre basalnivåer av testosteron och fick ökade testosteronnivåer efter injektion av hCG. De kryptorkida individerna i försöket hade varierande basalnivåer av testosteron, men koncentrationerna ökade, som hos hingsten, efter injektion av hormonet (Cox *et al.*, 1973).

I en något senare studie med 1720 ingående blodprover från misstänkt kryptorkida individer jämförde forskarna testosteronnivåerna före och efter hCG-stimulering, med nivåerna av östronsulfat i proven (östronsulfat visade sig i en studie av Raeside (1979) finnas i höga nivåer hos intakta hingstar). Studien fastslog att det inte gick att dra klara slutsatser från 6,7 % av provsvaren när parprov före och efter hCG-stimulering användes. För östronsulfat var endast 4 %

av provsvaren icke-konklusiva, efter att åsnor och hästar under tre år gamla uteslutits, då dessa fick falskt negativa resultat av analysen. Forskarna i den studien rekommenderar därför utifrån denna studie att analys av östronsulfat kan användas istället för testosteronanalys före och efter hCG-stimulering för äldre hästar, då detta är både enklare och en mer pålitlig analys för diagnos av kryptorkism (Cox *et al.*, 1986).

Gällande uttryck av AMH i kryptorkida testiklar så konstaterades i en studie, där en immunohistokemisk metod användes, att AMH uttrycks i sertoliceller, men inte i de omogna celler som presumtivt ska bli könsceller. I den aktuella studien kunde det också konstateras att AMH-uttrycket var kraftigare i sertolicellerna i de kryptorkida testiklarna jämfört med i normala testiklar. Samma sak gällde AMH-receptorn *anti-Müllerian hormone receptor* (AMHR2) som uttrycks på Leydig- och sertoliceller i högre grad i kryptorkida än normala testiklar. Däremot fanns ingen skillnad i mRNA-uttrycket för AMH mellan kryptorkida och normala testiklar. Forskarna drog paralleller till förändringarna i AMH-uttryck som sker i normala testiklar i övergången mellan prepubertal och vuxen ålder då AMH-uttrycket minskar medan mRNA-uttrycket inte gör det (Almeida *et al.*, 2013). Claes *et al.* (2013) visade i blodprover från valacker, kryptorkida hingstar och normala hingstar (till antalet 41, 41 respektive 15) att medelvärdet för AMH-koncentrationen hos kryptorkida hingstar var signifikant högre än för valacker. AMH-koncentrationen hos de kryptorkida hingstarna utan någon scrotal testikel var signifikant högre än hos de normala hingstarna, men för de kryptorkida individerna med en scrotal testikel kunde ingen signifikant skillnad i jämförelse med de intakta hingstarna påvisas. AMH-koncentrationerna var högre bland de kryptorkida individerna utan en scrotal testikel än hos dem med en scrotal testikel (Claes *et al.*, 2013).

I en fallserie med tre misstänkt kryptorkida individer där alla hade testosteronnivåer som inte var konklusiva för att avgöra huruvida kryptorkism förelåg eller inte, konstaterades AMH vara diagnostiskt värdefullt efter ett enda prov. Detta medan testosteronkoncentrationen krävde upprepade provtagningar både före- och efter injektion av hCG (Claes *et al.*, 2014).

### **Kvarbliven testikelvävnad efter kastration**

Hästar med kvarbliven testikelvävnad kan delas in i två grupper: Hästar som haft två normala testiklar där bara en testikel tidigare har tagits bort (hemikastration eller unilateral kastration), och hästar där testiklarna inte tagits bort (kryptorkider/klapphingstar). År 2005 definierade Maxwell i en reviewartikel begreppet hemikastration som omedvetet borttagande av bara en testikel istället för två, medan unilateral kastration definierades som medvetet borttagande av bara en istället för två testiklar (Maxwell, 2005).

I en studie undersöktes 160 hingstar som inkommit till klinik för kastration (perioden januari 2002-december 2006) och av dem hade 16 individer tidigare kastrerats unilateralt och 44 individer var kryptorkida. Av de 16 individerna som visade sig ha kastrerats unilateralt var den vanligaste anledningen till förnyad veterinärkontakt att de uppvisade hingstbeteende (14 st). För två av de 16 unilateralt kastrerade individerna visade det sig vid det andra ingreppet att endast bitestikeln tagits bort vid det tidigare ingreppet och själva testikeln lämnats kvar (Marshall *et al.*, 2007).

Gällande studier på prevalensen av hemikastration i den totala mängden kastrationer fastslogs den i en studie ligga på 4,5 % (1 av 22 individer) (de Ban, 1970). Gällande prevalensen av ofullständig kastration av kryptorkida individer finns rapporter på alltifrån 5 % upp till 41 %, med ett medelvärde på 26 % (Maxwell, 2005). Det kan vara besvärligt att diagnostisera kryptorkism om en normalt nedvandrad testikel blivit bortopererad (Stickle & Fessler, 1978)

Orsaken till att bara en testikel tas bort anges av Maxwell vara ett försök att kastrera en unilateralt kryptorkid hingst utan att kunna lokalisera den andra testikeln som finns i inguinalkanalen eller bukhålan. En annan orsak kan vara oförmåga att kastrera den andra testikeln trots att den är scrotal då den inte går att manipulera på ett bra eller säkert sätt. Utöver klinisk undersökning med palpation av scrotum och ultraljud rekommenderar författarna hormonanalys som komplement i diagnostiken av hemikastrerade individer för att skilja på verkliga valacker och kryptorkida individer. Analys av testosteron före och efter hCG-stimulering rekommenderades i den aktuella artikeln för individer upp till två år. För hästar äldre än tre år rekommenderades att östronsulfat analyseras (Maxwell, 2005).

Murase *et al.* visade i en studie publicerad 2015 att AMH kan vara användbart i diagnostiken av hemikastrerade kryptorkida hingstar då det uppmättes signifikanta skillnader i AMH-koncentration mellan hemikastrerade individer och valacker. För de ingående hemikastrerade kryptorkida hingstarna i försöket uppmättes en AMH-koncentration på  $17,6 \pm 3,0$  µg/L och hos intakta hingstar en koncentration på  $13,3 \pm 1,8$  µg/L, medan valacker hade koncentrationer under detektionsgränsen (Murase *et al.*, 2015).

## **MATERIAL OCH METOD**

Studien har sin utgångspunkt i data från prover inskickade för analys av antimüllerskt hormon (AMH) till klinisk kemiska laboratoriet på Universitetsdjursjukhuset (UDS) vid Sveriges lantbruksuniversitet i Uppsala, Sverige. Proverna har skickats in under en period från 2016-01-04 till och med 2019-03-07. Information om provnummer, provdatum, veterinärklinik, inskickande veterinär, hästras, namn på patienten och provsvar erhöles. I tillägg skickades en enkät ut till alla veterinärer eller kliniker som skickat in prover. Laboratoriet använder Beckman Coulter Gen II som analysmetod och redovisar provsvaren i enheten µg/L.

### **Enkätundersökning**

#### ***Urval av respondenter på enkäten***

Målpopulationen för enkätundersökningen var kliniker och veterinärer som skickat in prover till Klinisk kemiska laboratoriet på UDS. Utskick gjordes till samtliga inskickande kliniker och veterinärer där en mailadress fanns angiven utifrån de erhållna listorna.

#### ***Utformning av enkäten***

Enkäten utformades i det webbaserade enkätverktyget Netigate, [www.netigate.net](http://www.netigate.net), ett svenskt företag specialiserat på enkätundersökningar av olika slag. Enkäten skapades av författaren med stöd från handledarna Bodil Ström Holst och Ylva Hedberg Alm. Målbilden var att undersöka hormonets kliniska relevans och innehöll därför frågor om indikation till att provet tagits för den aktuella patienten, vilka kliniska tecken patienten haft och slutlig diagnos. Dessutom fanns en fråga om andra diagnostiska metoder för att fastställa diagnosen använts och om behandling satts in samt om denna i så fall hade haft önskat resultat. De flesta frågorna hade förutbestämda svarsalternativ för att minimera tidsåtgången att fylla i enkäten, men oftast fanns ett alternativ som möjliggjorde att lämna en egen kommentar om inget av de förutbestämda alternativen passade in. För att se exakt utformning av enkäten, se bilaga 1.

Innan enkäten skickades ut till mottagarna skickades en testenkät ut till Bodil Ström Holst och Ylva Hedberg Alm för att fastställa att utformningen av frågorna fungerade för syftet och hur lång tid enkäten tog att fylla i. Med enkätutskicket följde också en förklarande text om syftet med studien och instruktioner om vikten att fylla i den en gång per inskickat prov. I texten redogjordes även för varje enskild kliniks eller veterinärs inskickade prov med namn på patienterna, ras och provtagningsdatum för att klinikerna skulle kunna söka i sina journal-system. Detta innebar att unika texter skickades ut till varje klinik eller veterinär.

#### ***Utskick av enkäten***

Totalt skickades enkäten ut till 191 olika kliniker och enskilda veterinärer som tillsammans skickat in 505 prover. Enkäten skickades ut via mail till den mailadress som funnits angiven på den remiss som inkommit tillsammans med provet. Ett första utskick gjordes den 2019-04-29. Ett andra utskick gjordes till de som inte fyllt i enkäten 2019-06-03 och ett tredje 2019-09-02. Därefter kontaktades enstaka kliniker via telefon och/eller mail för ytterligare påminnelse om att fylla i enkäten.

## Bearbetning av data

Databearbetning gjordes i Microsoft Excel och redovisas i form av tabeller, diagram och i löpande text.

För patienter med AMH-värden under detektionsgränsen bestämdes ett värde på halva värdet för detektionsgränsen. Detektionsgränsen var 0,1 µg/L t.om. 2017 och 0,2 µg/L fr.o.m. 2018. För bearbetning av datamaterialet avseende variation hästtyp, säsongvariation och åldersvariation användes cut-off värden överensstämmande med klinisk kemiska laboratoriets egna, dessa listas nedan:

- Ston anses normalt ha en AMH-koncentration <4 µg/L. Ston med granulosa cellstumör har ofta värden >20 µg/L.
- Valacker har vanligtvis koncentrationer <0,14 µg/L, koncentrationer >1 µg/L kan indikera testikelvävnad.
- Hingstar har AMH-koncentrationer >5 µg/L.

Laboratoriet grundar sina referensvärden hos ston på studier av Almeida *et al.* (2011) och Ball *et al.* (2013).

Då orsaken till analys av AMH hos handjur i det tillgängliga datamaterialet var misstanke om kvarbliven testikelvävnad alternativt kryptorkism, redovisas hingstar och valacker oberoende av angivet kön på remissen gemensamt som ”handjur”.

## Statistisk analys

Statistiska beräkningar gjordes i Minitab version 18. En multivariabel regressionsanalys gjordes för att beräkna effekten av ålder, hästtyp (varmblod eller [kallblod + ponny]), säsong (avelssäsong: april till september eller icke avelssäsong: oktober till mars) och provtagningsår på AMH-koncentrationerna hos ston med AMH-koncentrationer <4 µg/L. AMH-koncentrationen var den beroende faktorn och variablerna (ålder, hästtyp, säsong och år) samt samtliga interaktioner inkluderades som oberoende faktorer. Därefter gjordes en så kallad ”backwards elimination approach” som resulterade i att fyra variabler återstod i modellen: ålder, provtagningsår och hästtyp samt interaktionen mellan ålder och hästtyp.

För att jämföra andelen onormala prov (>4 µg/L) med säsong, hästtyp och ålder (unga, medelålders eller gamla) gjordes chi-2-analyser.

## Litteratursökning

Sökning efter vetenskapliga artiklar med relevans för ämnet gjordes i databaserna Pubmed, Google Scholar och Web of Science. Sökord som användes var Anti-Müllerian hormone, AMH, freemartinism, horse, mare, stallion, gelding, tumour, teratoma, dysgerminoma, cystadenoma, adenocarcinoma, granulosa cell tumour, GCT, human chorionic gonadotropin, hCG, cryptorchidism, hemicastration och unilateral castration. Dessutom användes referenslistor från funna artiklar för att hitta fler artiklar. Tre veterinärmedicinska läroböcker användes för beskrivning av grundläggande anatomi, fysiologi och patologi (Zachary & McGavin, 2012; Dyce *et al.*, 2010; Sjaastad *et al.*, 2010).

## RESULTAT

### Ej analyserade prover

Av 505 inskickade prover hade 16 inte analyserats. Orsakerna listas i tabell 1.

Tabell 1. *Orsaker till att prover ej analyserats*

Orsak	Antal
Hemolys	6
Avbeställt	2
Skadats under transport	5
Fel provmaterial	1
Okänd anledning	2
<b>Totalt antal</b>	<b>16</b>

### Resultat av multivariabel regressionsanalys, sammanfattning

För ston med normala AMH-koncentrationer (<4 µg/L) undersöktes effekten av ålder, hästtyp, säsong samt provtagningsår, samt interaktionerna mellan dessa variabler, på AMH-koncentrationen. En signifikant effekt sågs av ålder ( $p=0,001$ ), interaktionen mellan ålder och hästtyp ( $p=0,03$ ), och provtagningsår ( $p=0,007$ ).

### Provtagningsår

Analyseras tillgängliga data för ston med uppmätta AMH-koncentrationer <4 µg/L uppdelat efter provtagningsår ses att medelvärdet för uppmätt AMH-koncentration varierar mellan åren. Resultaten redovisas i tabell 2. Skillnaden är statistisk signifikant ( $p = 0,007$ ).

Tabell 2. *Variation i AMH-koncentration mellan olika provtagningsår*

År	Antal prover <4 µg/L	Medelvärde AMH (µg/L)	Median (µg/L)
2016	95	0,9	0,8
2017	91	1,2	1,0
2018	62	1,2	1,0
2019	13	1,1	0,9
<b>Totalsumma</b>	<b>261</b>		

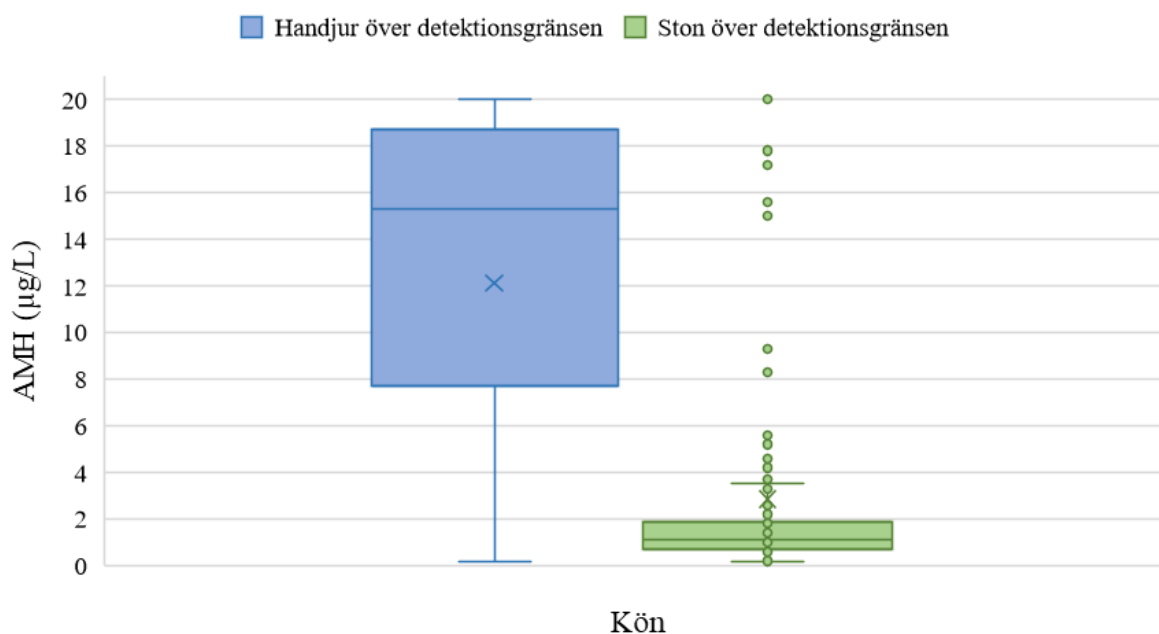
### Könsvariation

Av 489 prover som analyserats fanns kön angivet på patienten på 465 prover. Tabell 3 listar könsfördelningen av proverna med avseende på det totala antalet analyserade prover från respektive könskategori samt antal individer över respektive under detektionsgränsen. Figur 1 illustrerar samma sak i ett lådadiagram.



Tabell 3. Könsvariation mellan det totala antalet analyserade prover

Kön	Antal analyserade prover	Medelvärde AMH ( $\mu\text{g/L}$ )
Handjur	170	
Under detektionsgräns	143	
Över detektionsgräns	27	12,1
Ston	295	
Under detektionsgräns	20	
Över detektionsgräns	275	2,9
Ej angivet	24	
<b>Totalsumma</b>	<b>489</b>	

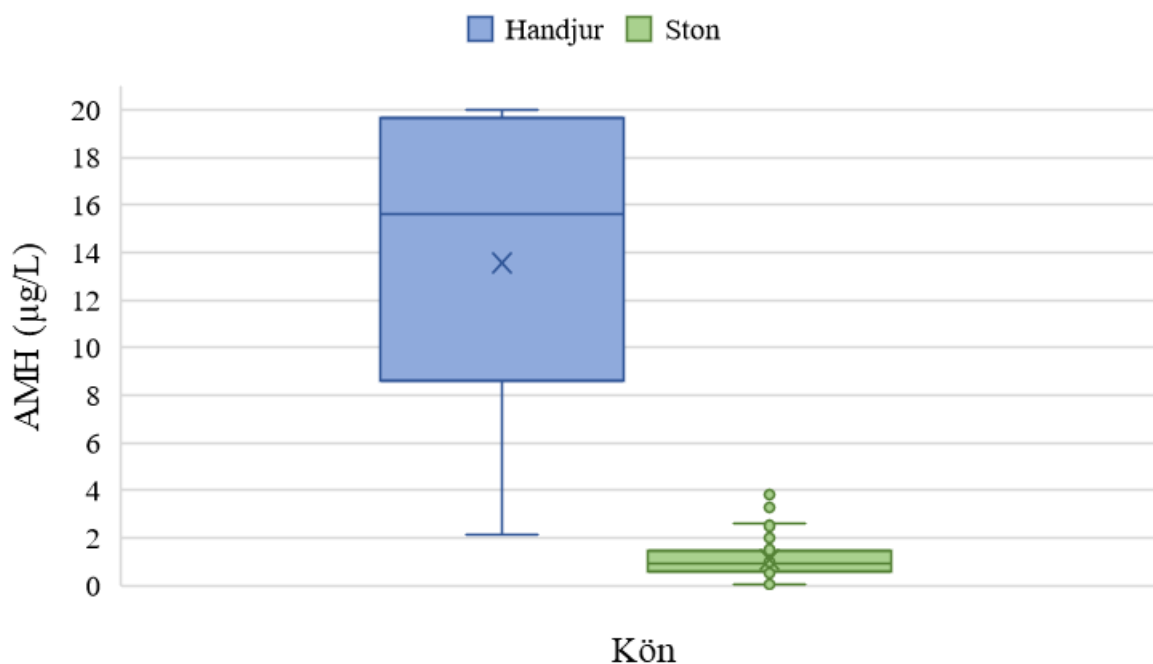


Figur 1. AMH-koncentration för handjur respektive ston med värden över detektionsgränsen.

I tabell 4 visas antal individer och medelvärden för dessa där AMH-koncentrationen uppmätts vara  $<4 \mu\text{g/L}$  för ston (cut off-värdet för normal vs. förhöjd koncentration) och  $>1 \mu\text{g/L}$  för handjur (cut-off värdet för valack vs. individ med testikelvävnad). Figur 2 visar samma sak i ett lådadiagram.

Tabell 4. AMH-koncentration för ston med normala koncentrationer (d.v.s. med AMH-koncentrationer <4 µg/L), respektive handjur som inte är valacker (d.v.s. med AMH-koncentrationer >1 µg/L)

Kön	Antal analyserade prover	Medelvärde AMH (µg/L)
Handjur	24	13,6
Sto	261	1,1
<b>Totalsumma</b>	<b>285</b>	



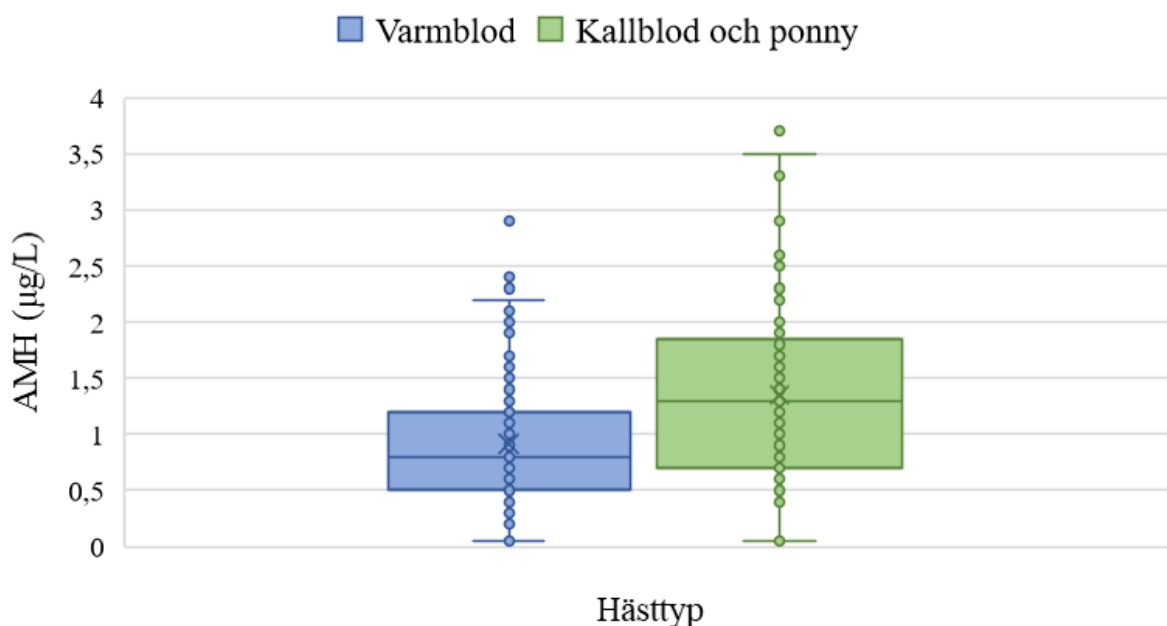
Figur 2. AMH-koncentration för ston med normala koncentrationer respektive handjur som inte är valacker.

### Variation hästtyp

Av 295 analyserade prover hos ston fanns ras angivet hos 243 av patienterna. Dessa fördelades efter om de hörde till hästtypen varmblood respektive kallblood och ponny. Deras fördelning och medelvärde av AMH-koncentration för individer med en uppmätt koncentration <4 µg/L illustreras i tabell 5 och figur 3. Noteras kan göras att medelvärdet i AMH-koncentration är lägre för gruppen varmblood jämfört med gruppen kallblood och ponny. I den slutliga regressionsmodellen är dock effekten av hästtyp inte signifikant. Andelen onormala prover (>4 µg/L) varierar inte signifikant med hästtyp.

Tabell 5. Variation hästtyp, ston med AMH-koncentration <4 µg/L

Hästtyp	Antal prover <4 µg/L	Medelvärde AMH (µg/L)	Median (µg/L)
Varmblod	153	0,9	0,8
Kallblod och ponny	65	1,4	1,3
<b>Totalsumma</b>	<b>218</b>		



Figur 3. Variation hästtyp, ston med AMH-koncentration <4 µg/L.

## Säsongsvariation

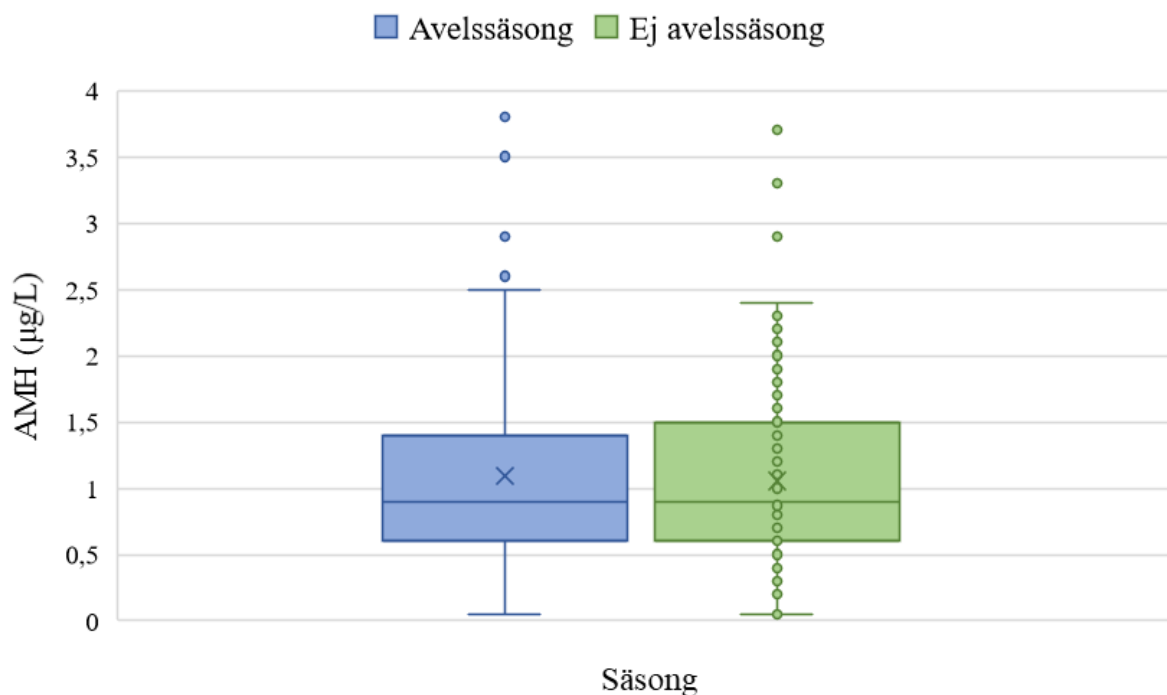
### Samtliga ston med AMH-koncentrationer <4 µg/L

Av 295 analyserade prover för ston hade 261 en AMH-koncentration <4 µg/L. Dessa delades in efter om de analyserats under avelssäsong (april-september) eller under icke-avelssäsong (oktober-mars). Skillnaden i AMH-koncentration mellan avelssäsong och icke-avelssäsong är liten och inte statistiskt signifikant ( $p > 0,05$ ). Andelen onormala prover (>4 µg/L) var 17 % under avelssäsong, jämfört med 5 % under icke-avelssäsong, vilket är en statistisk signifikant skillnad ( $p=0,002$ ).

Resultaten för normala prover (<4 µg/L) redovisas i tabell 6 och figur 4.

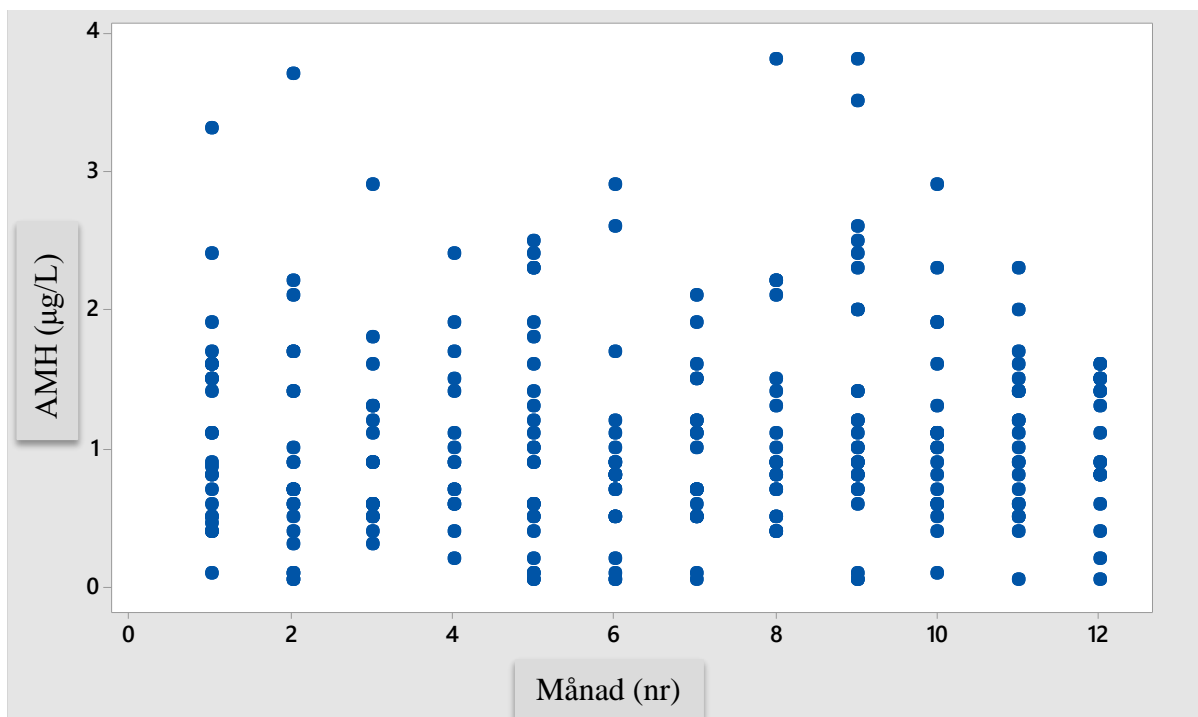
Tabell 6. Säsongsvariation, ston med AMH-koncentrationen <math><4 \mu\text{g/L}</math>

Säsong	Antal prover <math><4 \mu\text{g/L}</math>	Medelvärde AMH ( $\mu\text{g/L}$ )	Median AMH ( $\mu\text{g/L}$ )
Avelssäsong	132	1,1	0,9
Ej avelssäsong	129	1,1	0,9
<b>Totalsumma</b>	<b>261</b>		



Figur 4. AMH-koncentration i förhållande till säsong, ston med AMH-koncentration <math><4 \mu\text{g/L}</math>.

Hur AMH-koncentrationen varierar för varje enskild månad illustreras i figur 5. Ingen större skillnad kan ses mellan månaderna.



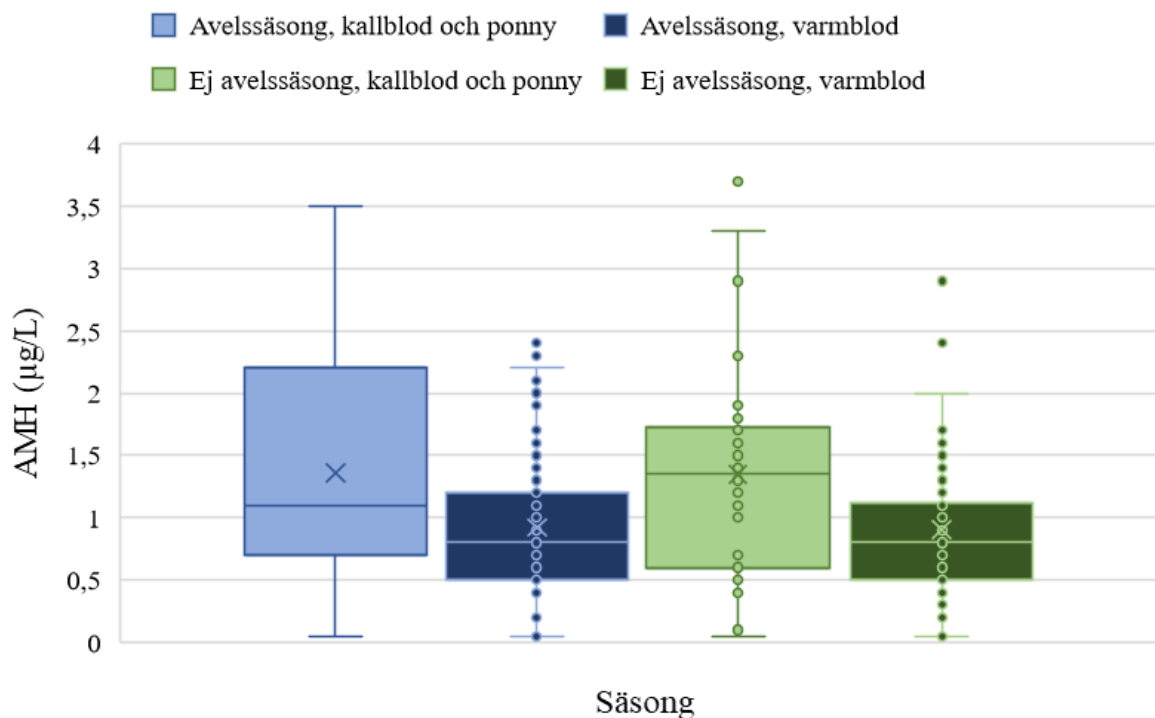
Figur 5. Variation i AMH-koncentration per månad, ston med AMH-koncentration  $<4 \mu\text{g/L}$ .

### Säsongvariation uppdelat efter hästtyp

Görs en uppdelning av ston vars AMH-koncentration var  $<4 \mu\text{g/L}$  efter säsong för analysen och om de tillhörde hästtypen varmblood eller kallblood samt ponnys fås resultat enligt tabell 7 och figur 6. Totalt fanns hästtyp angivet för 218 ston. Medelvärdet för AMH-koncentration är lägre för samtliga säsonger för varmblood, jämfört med kallblood och ponny.

Tabell 7. Säsongvariation, ston med AMH-koncentration  $<4 \mu\text{g/L}$  uppdelat efter hästtyp

Hästtyp och säsong	Antal prover $<4 \mu\text{g/L}$	Medelvärde AMH ( $\mu\text{g/L}$ )
Varmblood	153	
Avelssäsong	83	0,9
Ej avelssäsong	70	0,9
Kallblood och ponny	65	
Avelssäsong	31	1,4
Ej avelssäsong	34	1,4
<b>Totalsumma</b>	<b>218</b>	

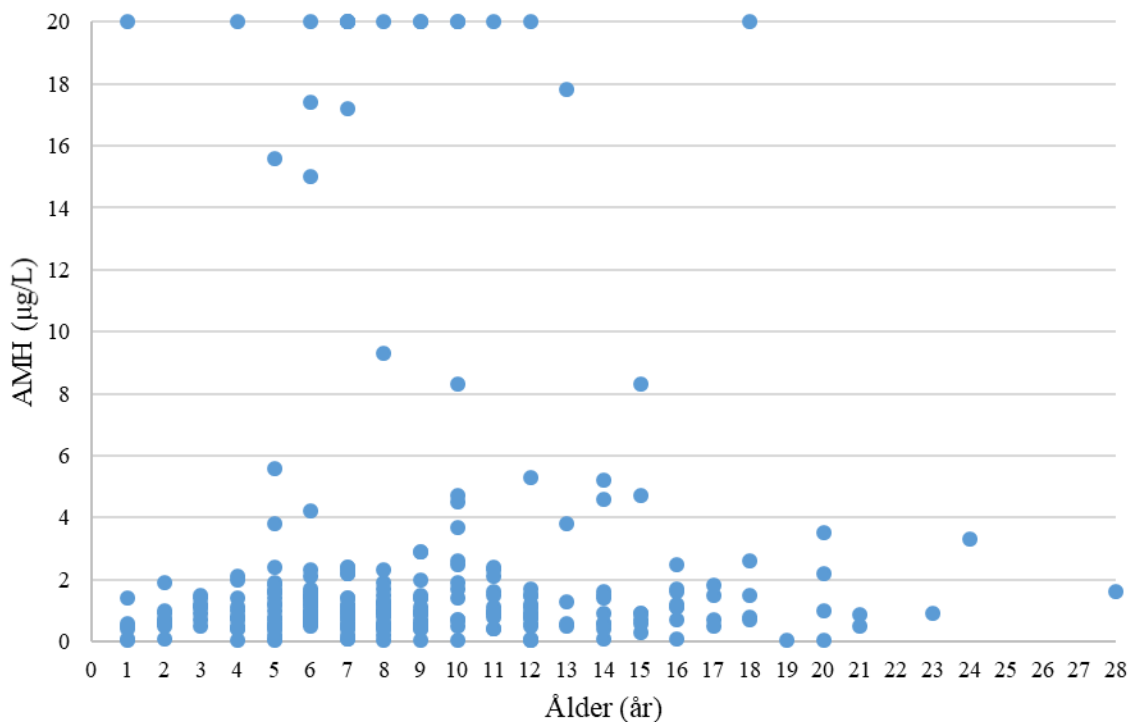


Figur 6. Säsongsvariation för ston med AMH-koncentration <4 µg/L uppdelat efter hästtyp.

## Åldersvariation

### **Individuell åldersvariation samtliga ston**

Av 295 analyserade prover för ston fanns födelseår angivet för 257 av patienterna. Deras individuella variation i AMH-koncentration (µg/L) illustreras i figur 7. Ingen tydlig skillnad i AMH-koncentration kan urskiljas mellan åldrarna.



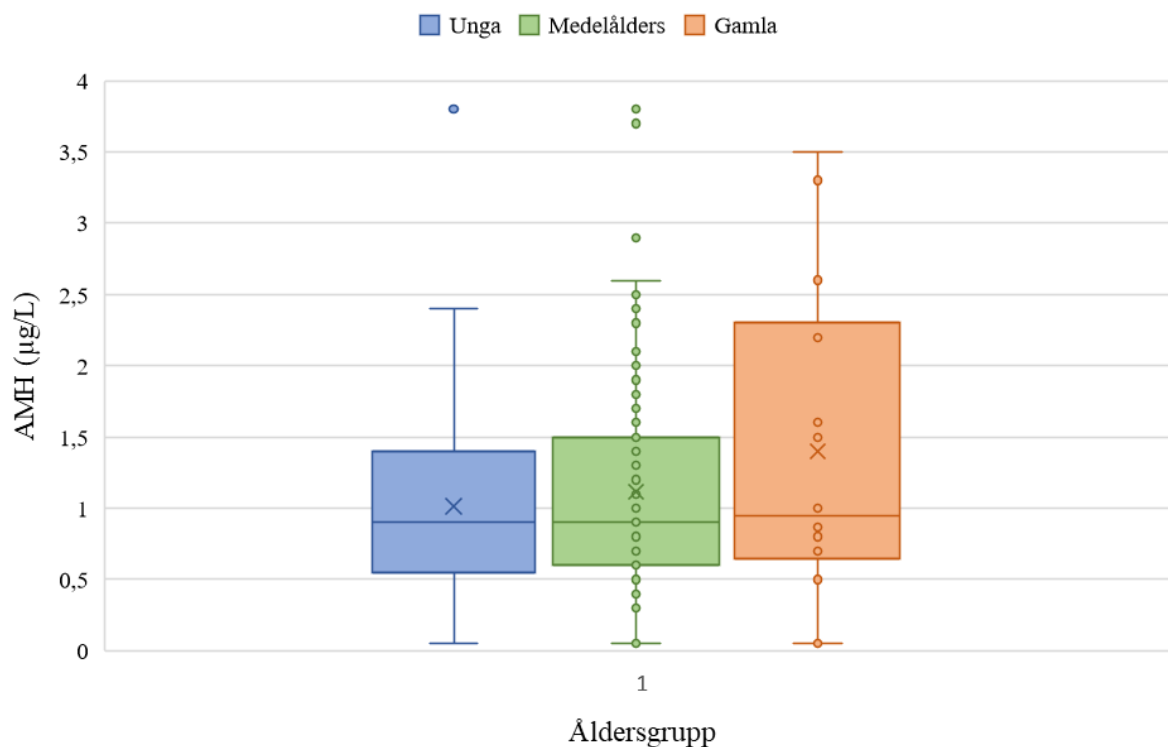
Figur 7. Individuell variation mellan ålder och AMH-koncentration, samtliga ston.

#### Samtliga ston med AMH-koncentration <4 µg/L

Av de 257 proverna från ston där ålder fanns angivet på patienten uppmättes en AMH-koncentration <4 µg/L i 226 av proverna. Proverna delades in beroende på om patienten vid tidpunkten för analys var ung (1–8 år), medelålders (9–17 år) eller gammal (18–28 år). Ålder hade en signifikant påverkan på AMH-koncentrationen ( $p=0,001$ ), och det var också en signifikant interaktion mellan ålder och hästtyp ( $p=0,03$ ). Hur hästarna fördelas i fråga om antal och medelvärde för AMH-koncentration (µg/L) illustreras i tabell 8 och figur 8.

Tabell 8. Åldersvariation, ston med AMH-koncentration <4 µg/L

Åldersgrupp	Antal prover <4 µg/L	Medelvärde AMH (µg/L)	Median (µg/L)
Unga (1–8 år)	125	1,0	0,9
Medelålders (9–17 år)	87	1,1	0,9
Gamla (18–28 år)	14	1,4	1,0
<b>Totalsumma</b>	<b>226</b>		



Figur 8. Åldersvariation, samtliga ston med AMH-koncentration  $<4 \mu\text{g/L}$ .

Andelen onormala prover ( $>4 \mu\text{g/L}$ ) varierade inte signifikant med åldern (unga, medelålders, gamla).

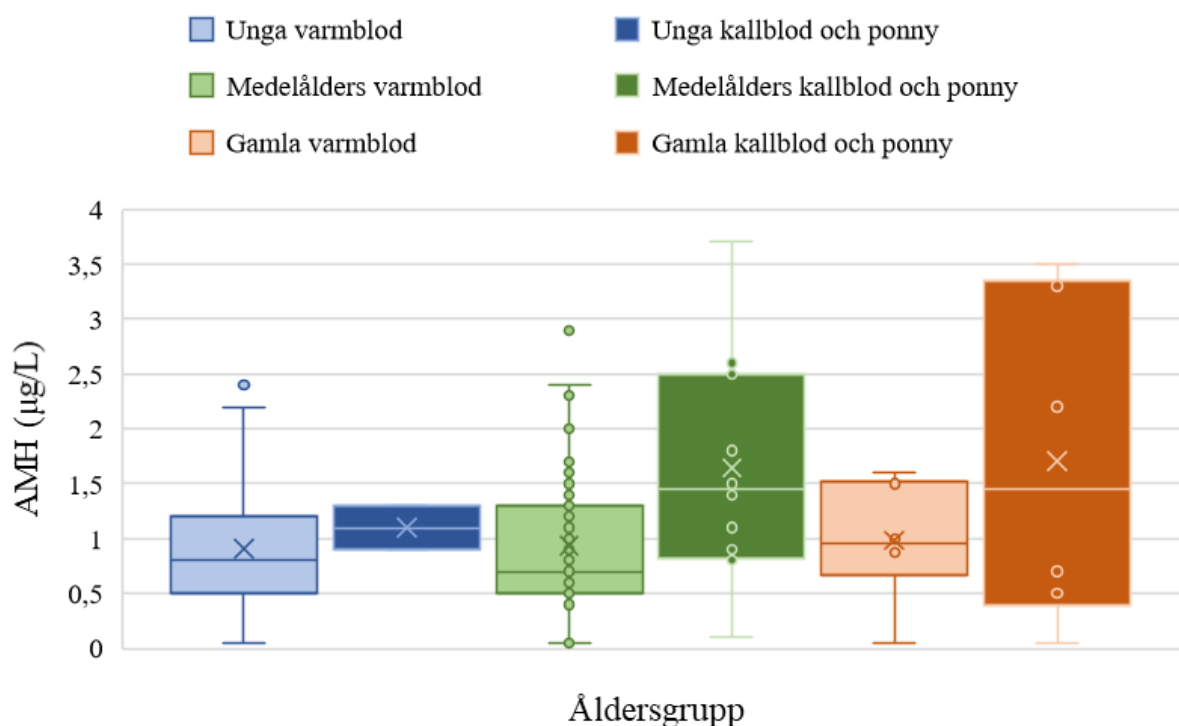
#### **Åldersvariation uppdelat efter hästtyp**

Delas individerna upp både efter ålder och hästtyp för de där det fanns angivet, fås resultat som redovisas i tabell 9 och figur 9. Totalt analyserades 134 prover från varmblood och 57 prover från kallblood och ponny med en AMH-koncentration  $<4 \mu\text{g/L}$ . Även när uppdelning av hästtyp görs ses en ökad koncentration av AMH med stigande ålder.



Tabell 9. Åldersvariation, samtliga ston med AMH-koncentration <4 µg/L uppdelat efter hästtyp

Hästtyp och åldersgrupp	Antal prover <4 µg/L	Medelvärde AMH (µg/L)
Varmblod	134	
Unga	77	0,9
Medelålders	51	0,9
Gamla	6	1,0
Kallblod och ponny	57	
Unga	30	1,2
Medelålders	20	1,5
Gamla	7	1,8
<b>Totalsumma</b>	<b>191</b>	



Figur 9. Åldersvariation, ston med AMH-koncentration <4 µg/L uppdelat efter hästtyp.

## Enkätundersökning

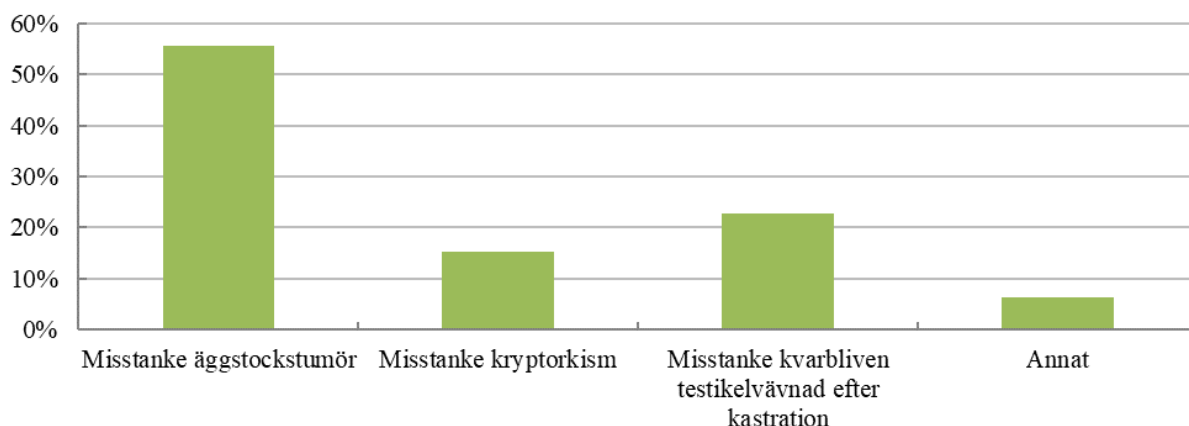
Enkäten distribuerades till 191 olika kliniker och enskilda veterinärer. Dessa hade tillsammans skickat in 505 prover för analys av AMH. Totalt inkom 180 svar, inräknat att respondenten fyllt i svar på minst en fråga i enkäten, vilket innebar en svarsfrekvens på 35,6 %. För handjur inkom 66 svar och för sto 114.

### Indikation bakom AMH-analysen

Den inledande frågan i enkäten var ”Vilken indikation låg bakom analysen av antimüllerskt hormon (AMH) hos patienten?”. Majoriteten svarade att misstanken var äggstockstumör. Fullständiga resultat redovisas i tabell 10 och figur 10.

Tabell 10. Indikation bakom AMH-analysen

Indikation	Antal svar	Andel (%)
Misstanke äggstockstumör	98	55,7 %
Misstanke kryptorkism	27	15,3 %
Misstanke kvarbliven testikelvävnad efter kastration	40	22,7 %
Annat	11	6,3 %
<b>Totalt antal svar</b>	<b>176</b>	

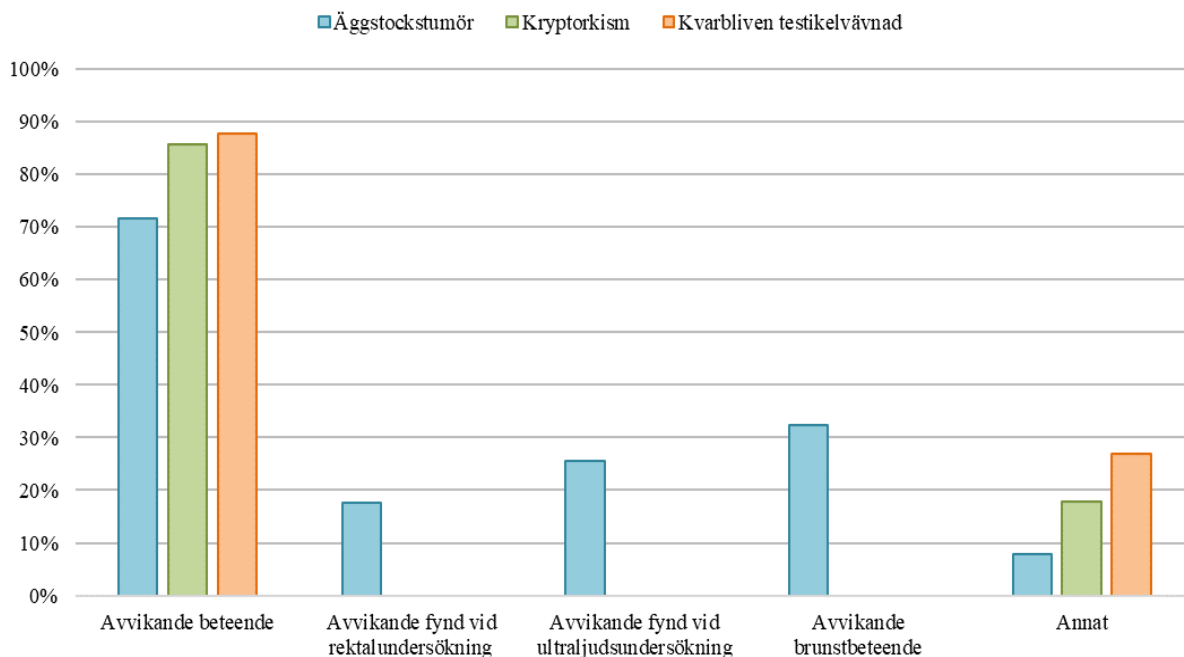


Figur 10. Indikation bakom AMH-analysen.

I de fall fritextsvar angivits under alternativet ”annat” fanns bl.a. uppgifter om att provet tagits för att lugna djurägaren för att hästen betedde sig hingstigt, att indikationen varit oavbruten brunst, onormal laktation och att hästen ändrat beteende vid ankomst till nytt stall och där börjat bete sig hingstigt.

### Grund för misstanke

Frågan ”Misstanken om ... grundades på:” kunde besvaras med något eller några av alternativen ”Avvikande beteende”, ”Avvikande fynd vid rektalundersökning”, ”Avvikande fynd vid ultraljudsundersökning” och/eller ”Annat”. För de som svarat att indikationen bakom provet varit ”Äggstockstumör” fanns även alternativet ”Avvikande brunstbeteende”. Resultaten redovisas i figur 11 och i tabell 11, 12 och 13. För samtliga indikationer bakom analysen dominerar avvikande beteende som orsak till att analysen gjordes.



Figur 11. Grund för misstanke bakom äggstockstumör, kryptorkism respektive kvarbliven testikelvävnad.

### Äggstockstumör

Tabell 11. Grund för misstanke om äggstockstumör

Grund för misstanke	Antal svar	Andel (%)
Avvikande beteende	73	71,6 %
Avvikande fynd vid rektalundersökning	18	17,7 %
Avvikande fynd vid ultraljudsundersökning	26	25,5 %
Avvikande brunstbeteende	33	32,4 %
Annat	8	7,8 %
<b>Totalt antal svar</b>	<b>102</b>	

I de fall grunden för misstanke om äggstockstumör varit ”annan” och fritextsvar angivits nämns bland annat kliniska tecken som exempelvis lakterande juver trots aldrig haft föl, förstörd klitoris, ej blivit/svår att få dräktig, istadighet/svårriden och i två fall att hästen opererats för äggstockstumör på en äggstock tidigare och att symtomen kvarstått/återkommit.

## Kryptorkism

Tabell 12. Grund för misstanke om kryptorkism

Grund för misstanke	Antal svar	Andel (%)
Avvikande beteende	24	85,7 %
Avvikande fynd vid rektalundersökning	0	0,0%
Avvikande fynd vid ultraljudsundersökning	0	0,0 %
Annat	4	17,9 %
<b>Totalt antal svar</b>	<b>28</b>	

I de fall grunden för misstanke om kryptorkism varit ”annan” och fritextsvar angivits nämns bland annat faktorer som att det i passet varit noterat att hästen bara kastrerats på ena testikeln eller att den varit benämnd som klapphingst i passet, att palpation ej kunnat påvisa testiklar och att bara en testikel återfunnits vid kastration med titthålskirurgi.

## Misstanke om kvarbliven testikelvävnad efter kastration

Tabell 13. Grund för misstanke om kvarbliven testikelvävnad efter kastration

Grund för misstanke	Antal svar	Andel (%)
Avvikande beteende	36	87,8 %
Avvikande fynd vid rektalundersökning	0	0,0 %
Avvikande fynd vid ultraljudsundersökning	0	0,0 %
Annat	11	26,8 %
<b>Totalt antal svar</b>	<b>41</b>	

I de fall grunden för misstanke om kvarbliven testikelvävnad efter kastrations varit ”annan” och fritextsvar angivits nämns bl.a. oro hos ägarna för att hästen var betett sig hingstigt och att testikelliknande struktur kunnat palperas i området för scrotum (fyra fall).

## Annan

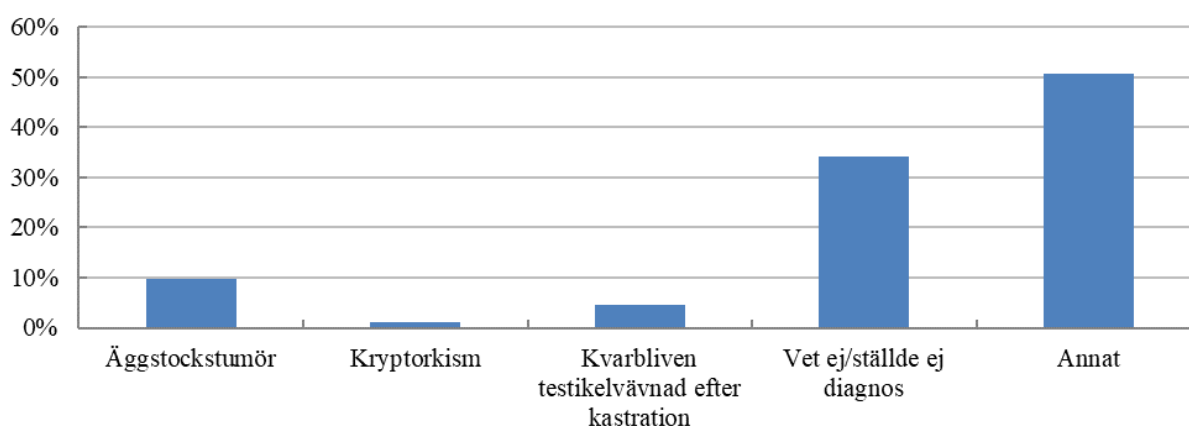
I de fall indikationen bakom AMH-analysen varit ”annan” och fritextsvar till bakgrunden till misstanken fyllts i nämns bland annat hingstbeteende, oavbruten brunst, onormal laktation, att hästen skulle kastreras hemma men att det avbrutits då opererande veterinär diagnostiserat hästen som kryptorkid samt att provet beställts som testosteron men att denna analys inte längre utfördes på laboratoriet och därmed blev AMH-analys det bästa alternativet.

## Slutlig diagnos

Resultaten för slutlig diagnos efter AMH-analysen redovisas i tabell 14 och figur 12. Majoriteten ställde en annan diagnos än de på förhand angivna alternativen, många ställde ingen diagnos alls.

Tabell 14. Slutlig diagnos efter AMH-analysen

Slutlig diagnos	Antal	Andel (%)
Äggstockstumör	16	9,1 %
Kryptorkism	2	1,1 %
Kvarbliven testikelvävnad efter kastration	8	4,6 %
Vet ej/ställde ej diagnos	60	34,1 %
Annat	90	51,1 %
<b>Totalt antal svar</b>	<b>176</b>	



Figur 12. Slutlig diagnos efter AMH-analysen.

Delas svaren upp efter kön kan konstateras att för ston kunde 16 av 114 (14,0 %) ställa diagnosen äggstockstumör med en variation i AMH-koncentration från 0,7 till >20 µg/L. För handjur kunde 2 av 66 (3,0 %) ställa diagnosen kryptorkism (variation i AMH-koncentration från 2,8 till >20 µg/L) och 8 av 66 (12,1 %) ställa diagnosen kvarbliven testikelvävnad efter kastration (variation i AMH-koncentration från 2,1 till >20 µg/L).

I de fall den slutliga diagnosen varit ”annan” och fritextsvar fyllts i nämndes bl.a. att patientens beteende med tiden normaliserats, beteendeförändring utan funnen orsak, att patienten visat hingstbeteende p.g.a. sen kastration, att diagnosen blivit magsår, renal dysplasi eller mastit samt att slutsatsen blivit att hästen var frisk (d.v.s. ej hade äggstockstumör, var kryptorkid eller hade kvarbliven testikelvävnad efter operation).

### **Andra diagnostiska metoder**

För att kunna ställa diagnos angav 86 av 165 (52,2 %) att de inte hade använt någon mer diagnostisk metod utöver analys av AMH. Av de som använt fler diagnostiska metoder fördelas de enligt tabell 15.

Tabell 15. Använda diagnostiska metoder utöver AMH-analys

Använd diagnostisk metod (utöver AMH-analys)	Antal	Andel (%)
Rektalundersökning	41	24,9 %
Ultraljudsundersökning	49	29,7 %
Analys av östronsulfat	8	4,9 %
Annat	27	16,4 %
Använde ingen mer diagnostik utöver AMH-analys	86	52,2 %
<b>Totalt antal svar</b>	<b>165</b>	

Under alternativet ”annat” nämns bland annat andra blodprovsanalyser (kemianalyser, insulin, ACTH), ortopedisk utredning, gynekologisk undersökning och vävnadsprov för mikroskopi (patologisk-anatomisk diagnos, PAD) efter biopsi/operation.

### **Behandling**

Majoriteten av respondenterna satte inte in någon behandling för åkomman deras patient led av, endast ca 30 % valde att behandla med någon eller några av nedanstående alternativ. För de som satte in behandling fördelades den enligt tabell 16.

Tabell 16. Insatt behandling efter analys av AMH

Insatt behandling	Antal	Andel (%)
Ingen	132	74,6 %
Kulor i livmodern	3	1,7 %
Kirurgi (avlägsnande av äggstock/kryptorkid testikel/kvarbliven testikelvävnad efter kastration)	17	9,6 %
Progesteronbehandling	5	2,8 %
Annan	28	15,8 %
<b>Totalt antal svar</b>	<b>177</b>	

Under alternativet ”annat” nämns bland annat att respondenten inte visste om behandling satts in, antibiotikabehandling (penicillin/tetracyklin), behandling mot pars pituary intermedia dysfunction (PPID), magsårsbehandling och att hästen remitterades.

### **Resultat av behandlingen**

Av de som behandlat angav 18 (17,8 %) att behandlingen gett önskat resultat, 7 (6,9 %) att den inte gett det och 76 (75,3 %) att de inte visste.

## Individer med värden över referensvärdet

### Ston

Av 295 analyserade prover för ston hade 34 (11 %) en koncentration  $>4$   $\mu\text{g/L}$ . 18 av dessa ston (53 %) hade så höga värden som 20  $\mu\text{g/L}$  eller högre. Individerna fördelar sig avseende ålder, hästtyp och säsong i enlighet med tabell 17.

Tabell 17. *Fördelning avseende hästtyp, säsong och ålder för ston med värden över referensvärdet*

Variabel	Antal prover	Medelvärde AMH ( $\mu\text{g/L}$ )
Hästtyp	25	
Varmblod	18	14,0
Kallblod och ponny	7	13,6
Säsong	34	
Avelssäsong	27	15,4
Ej avelssäsong	7	13,2
Ålder	31	
Unga (1–8 år)	15	16,3
Medelålders (9–17 år)	15	12,2
Gamla (18- år)	1	20

### Handjur

Av 170 analyserade prov för handjur hade 24 en AMH-koncentration  $>1$   $\mu\text{g/L}$ . Av dessa hade sex individer en AMH-koncentration på 20  $\mu\text{g/L}$  eller högre. Åtta av de 24 med AMH-koncentrationer  $>1$   $\mu\text{g/L}$  besvarade enkäten. Utifrån enkätsvaren kunde utläsas att hos samtliga individer där diagnosen kryptorkism eller kvarbliven testikelvävnad efter kastration hade ställts var AMH-koncentration  $>1$   $\mu\text{g/L}$ . I tabell 18 redogörs för grundläggande information om patienten, provet och enkätsvar.

Tabell 18. Information om patienter av hankön med AMH-koncentration över referensvärdet med enkätsvar

Patientinformation	Indikation bakom AMH-analys	Provtagningsmånad	AMH-koncentration (µg/L)	Diagnos
Nio år gammalt varmblood	Misstanke kvarbliven testikelvävnad efter kastration, endast en testikel funnen vid abdominal exploration	Maj	2,8	Kryptorkism
13 år gammal ponny	Misstanke kryptorkism p.g.a. avvikande beteende	Februari	20	Kryptorkism
Tre år gammalt varmblood	Misstanke kvarbliven testikelvävnad efter kastration p.g.a. avvikande beteende	December	20	Kvarbliven testikelvävnad efter kastration
Åtta år gammalt varmblood	Misstanke kvarbliven testikelvävnad efter kastration p.g.a. avvikande beteende	Augusti	20	Kvarbliven testikelvävnad efter kastration
Sex år gammalt varmblood	Misstanke kvarbliven testikelvävnad efter kastration p.g.a. avvikande beteende	Augusti	20	Kvarbliven testikelvävnad efter kastration
Nio år gammal ponny	Misstanke kvarbliven testikelvävnad efter kastration p.g.a. avvikande beteende	December	2,1	Kvarbliven testikelvävnad efter kastration
16 år gammalt varmblood	Misstanke kvarbliven testikelvävnad efter kastration p.g.a. avvikande beteende och andra avvikande blodprovsanalyser	Maj	17,7	Kvarbliven testikelvävnad efter kastration
Fyra år gammal, okänd ras	Misstanke kvarbliven testikelvävnad efter kastration p.g.a. avvikande beteende	Januari	18,7	Kvarbliven testikelvävnad efter kastration



## **Ston diagnostiserade med granulosa-cellstumör**

Hos alla ston utom fyra där GCT diagnostiserats (enligt enkätsvaren totalt 16 st av 114 svar) var AMH-koncentration  $>20 \mu\text{g/L}$ . De fyra individer med lägre koncentrationer än  $20 \mu\text{g/L}$  hade koncentrationer på 0,7, 1,0, 1,3 respektive  $8,3 \mu\text{g/L}$ . Den yngsta patienten där GCT enligt enkätsvaret kunnat diagnostiseras var 3 år och den äldsta 20 år, resterande var mellan 4 och 18 år gamla.

Fler ston (11 av 16) där GCT diagnostiserats har provtagits under avelssäsong. Sju av 16 patienter med GCT var varmblood och fyra var ponnys, för resterande fem patienter med GCT fanns hästtyp inte angivet.

## **Ston med förhöjd AMH-koncentration utan diagnos granulosa-cellstumör**

Nedan listas de fyra patienter med AMH-koncentration  $>4 \mu\text{g/L}$  med enkätsvar där diagnosen GCT inte ställts:

- Sto, två år gammalt, varmblood, provtagen i fält under mars månad som betedde sig som en hingst. En AMH-koncentration på  $9,3 \mu\text{g/L}$  uppmättes. Utreddes senare samma år på klinik där det konstaterades att patienten hade två testiklar i buken men honliga yttre könsorgan, således ett fall av DSD. Testiklarna opererades sedermera bort via flanksnitt.
- Sto, nio år gammalt, okänd ras, provtagen i fält under september månad. Misstanke äggstockstumör p.g.a. avvikande beteende och brunst. En AMH-koncentration på  $20 \mu\text{g/L}$  uppmättes. Patienten remitterades till klinik för ultraljud, djurägarna valde dock att avboka tiden.
- Sto, 12 år gammalt, varmblood, provtagen på klinik under maj månad som en del i en stor utredning av kronisk smärtproblematik i kombination med beteendeförändring. Hästen hade även haft fång i omgångar tidigare. Ej primär misstanke om äggstockstumör. En AMH-koncentration på  $5,3 \mu\text{g/L}$  uppmättes. Patienten avlivades slutligen utan fastställd diagnos.
- Sto, 15 år gammalt, kallblood, provtagen under juni månad. Provtogs p.g.a. avvikande brunstbeteende och avvikande fynd vid ultraljudsundersökning. En AMH-koncentration på  $8,3 \mu\text{g/L}$  uppmättes. Tog även prov för Equint metabolt syndrom (EMS). Ställde ingen diagnos och stoet togs ur avel då hon inte blivit dräktig på två år.

## DISKUSSION

Antimüllerskt hormon är ett hormon med betydelse dels under fosterstadiet genom att det medverkar vid könsutvecklingen, dels i vuxen ålder genom att det medverkar i regleringen av follikeldynamiken respektive spermatogenesisen. Det är hormonets betydelse under vuxen ålder som belysts i detta examensarbete, med fokus på häst.

AMH-koncentrationen varierar med kön, där valacker har låga eller omätbara nivåer, ston anses normalt ha värden  $<4 \mu\text{g/L}$  och intakta hingstar  $>5 \mu\text{g/L}$ . De data som ligger till grund för detta examensarbete visar mycket riktigt att handjur har högre koncentrationer av AMH än ston. Medelvärdet i AMH-koncentration för alla ston med koncentrationer  $<4 \mu\text{g/L}$  är  $1,1 \mu\text{g/L}$ , vilket korrelerar väl med den koncentration Almeida *et al.* (2011) uppmätte hos normala, cykliska ston ( $0,96 \pm 0,08 \mu\text{g/L}$ ). För handjur är medelkoncentrationen för individer som inte är valacker  $13,6 \mu\text{g/L}$  vilket är väl över gränsen på  $5 \mu\text{g/L}$  som intakta hingstar anges ha i klinisk kemiska laboratoriets referensvärden.

För handjur dras i denna studie gränsen för normalt respektive onormalt prov vid  $1 \mu\text{g/L}$ , detta då det är koncentrationen där laboratoriet svarar ut att den är förhöjd för valacker. I den gruppen av handjur kan med andra ord ingå såväl kryptorkida individer, individer som inte kastrerats korrekt och således har testikelvävnad kvar, och intakta hingstar. Vilka individer som ingår i gruppen kan diskuteras. Scarlet *et al.* (2018) påvisade att AMH-koncentrationen hos kryptorkida hingstar ökade mellan ett och två års ålder, detta i kontrast till hos hingstar med normal testikelutveckling där koncentrationen minskade. Även hemikastrerade hingstars koncentration av AMH har visat sig vara högre än intakta hingstars ( $17,6 \pm 3,0 \mu\text{g/L}$  jämfört med  $13,3 \pm 1,8 \mu\text{g/L}$ ) (Murase *et al.*, 2015). Det är med detta som grund inte otänkbart att gruppen ”handjur som inte är valacker”, d.v.s. handjur med koncentrationer  $>1 \mu\text{g/L}$  utgörs av alla tre kategorier: Intakta hingstar, kryptorkider och de som blivit unilateralt- eller hemikastrerade. Kopplas resultaten utifrån insamlade data samman med resultaten från enkätstudien kan konstateras att samtliga handjur där diagnosen kryptorkism eller kvarbliven testikelvävnad efter kastration kunnat ställas mycket riktigt har koncentrationer  $>1 \mu\text{g/L}$ . Dock bör poängteras att studiepopulationen sett till antalet individer i detta är mycket begränsad.

Hos ston är ålder (år), interaktionen mellan ålder (år) och hästtyp, samt provtagningsår de variabler som är statistiskt signifikanta ( $p < 0,05$ ) om en multivariabel regressionsanalys görs där hänsyn tas till alla faktorer som kan påverka AMH-koncentrationen. Variationen mellan provtagningsår är liten och väl under övre referensvärdet, och saknar därför klinisk betydelse.

AMH-koncentrationen ökar med stigande ålder, mer hos kallblod och ponnyer än hos varmblod. Det är dock ingen signifikant skillnaden i andelen onormala prover (d.v.s. prover med en uppmätt AMH-koncentration  $>4 \mu\text{g/L}$ ) för kallblod och ponny jämfört med varmblod. Andelen gamla ston i gruppen kallblod och ponny är 13 %, medan den bland varmblod är 4 %.

Ökningen i AMH-koncentration med stigande ålder i denna studie står i skarp kontrast till tidigare publicerade studier där det visats att AMH-koncentrationen snarare minskar med stigande ålder till följd av minskad AFC (Claes *et al.*, 2015). Orsakerna till de erhållna resultaten kan diskuteras. En orsak skulle kunna vara att de patienter där AMH analyserats helt

enkelt inte är friska och många har, att döma av enkätstudien, kliniska tecken i form av avvikande brunst, hingstbeteende m.m. Är det ett resultat av avvikande follikeldynamik som gör att AMH-koncentrationen i den här populationen stiger med åldern? För att avgöra detta behövs kompletterande studier. Dessutom är det viktigt att ha med i beräkningen att studiematerialet i detta examensarbete är litet och således innebär det att resultaten inte är lika säkra som med en större studiepopulation.

Ston är säsongsmässigt cykliska i sina brunster. Eftersom äggstocksaktiviteten är högre under avelssäsongen (i denna studie definierad som april-september) än under icke-avelssäsong (i denna studie definierad som oktober-mars), skulle AMH-koncentrationen kunna vara högre under än utanför avelssäsong. Dock har tidigare publicerade studier inte kunnat konstatera en variation i AMH-koncentration med cyklusstadium (Almeida *et al.*, 2011), och det är ett rimligt antagande att koncentrationen inte heller påverkas av säsong. Någon signifikant effekt av säsong sågs inte heller i detta arbete. Studeras säsongsvariationen månad för månad (figur 5) för samtliga ston ses ingen större skillnad i koncentration mellan månaderna.

Över hälften (55,7 %) av de prover som skickas in för analys av AMH är från hästar med misstanke om äggstockstumör, näst vanligast är misstanke om kvarbliven testikelvävnad efter kastration och på tredje plats misstanke om kryptorkism. Det är dock bara en mindre andel som kan ställa diagnos, de flesta ställer en annan diagnos än de angivna alternativen eller ingen diagnos alls (tabell 13). Sätts detta i relation till varför misstanken om ovanstående tillstånd uppkommit är det intressant att notera att avvikande beteende och avvikande brunst ter sig vara relativt vanligt, ett prov för analys av AMH har då troligtvis kommit väl till pass i ett försök att förklara problematiken, och många gånger utesluta granulosa-cellstumör. En viss andel anger att de haft avvikande fynd vid rektal- och/eller ultraljudsundersökning. I vissa fall kan ett blodprov för analys av AMH säkerligen vara en lugnande åtgärd för djurägaren. Även om granulosa-cellstumörer är den vanligaste tumören i äggstockarna, svarar de bara för 2,5 % av tumörerna totalt, vilket innebär att det är den sjätte vanligaste tumörformen hos häst (Sundberg *et al.*, 1977). Om det därtill läggs in i beräkningen att omkring 17,9 % av hästarna i Sundbergs studie hade någon form av neoplas över huvud taget är det måhända så att diagnosen granulosa-cellstumör är en diagnos många djurägare hoppas kan förklara deras hästs beteendeproblematik, men i själva verket inte är så vanlig att den ställs. Av de som besvarade enkäten som haft ett sto som patient svarade 16 av 114 (14,0 %) att de kunnat ställa diagnosen granulosa-cellstumör. Detta ska dock sättas i relation till att individerna som ingått i studien alla hade indikation att ta blodprov för analys av AMH och således inte är ett representativt urval för hästpopulationen i stort varför siffrorna ska tolkas med försiktighet. Av alla som besvarat enkäten är det trots allt drygt 34 % som inte kunde ställa någon diagnos alls, och drygt hälften som ställde en annan diagnos än de på förhand föreslagna alternativen.

Gällande de som svarat att AMH-analysen gjorts med misstanken kryptorkism eller kvarbliven testikelvävnad efter kastration, har den absoluta merparten gjort det då patienten haft avvikande beteende (85,7 och 87,8 % för kryptorkism respektive kvarbliven testikelvävnad efter kastration). Även här kan konstateras att det till AMH-analysen troligtvis sätts hopp till att få en förklaring till hästens beteende, men att det inte alls är speciellt vanligt att det faktiskt leder till en diagnos. Andelen av respondenterna på enkäten som kunde ställa kryptorkism eller kvar-

bliven testikelvävnad efter kastration som diagnos var 3,0 respektive 12,1 %. De som inte vet vad diagnosen blev (drygt 34 % totalt) är dock, som redan nämnts, en betydande andel. Orsaker till att ingen diagnos kunnat ställas kan vara att en annan veterinär tagit över patienten och diagnosen fastställts senare, varför det är möjligt att det är fler än vad som syns i enkäten som faktiskt har kunnat ställa diagnos, bara i ett senare skede. Alternativt att hästen inte hade några patologiska förändringar utan beteendeproblematiken låg i t.ex. hanteringen av hästen, att något förändrats i hästens miljö, t.ex. byte av stall eller flock eller att individen blivit sent kastrerad.

Baserat på de resultat som erhållits i detta examensarbete tycks de referensvärden som används på det kliniska kemiska laboratoriet på UDS för både ston och handjur över lag vara rimliga. För ston baseras de på en studie av Almeida *et al.* (2011) där gränsen för normalt respektive onormalt prov dras vid 4 µg/L, men där det samtidigt anges att de flesta ston med granulosa-cellstumör har värden över 20 µg/L vilket baseras på en studie av Ball *et al.* (2013). Detta stämmer väl överens med svaren från enkätstudien, där den patient med lägst koncentration AMH som diagnostiserades med granulosa-cellstumör visserligen hade en koncentration på 0,7 µg/L, men majoriteten (12 av 16) som kunnat ställa samma diagnos hade en koncentration på 20 µg/L eller högre. Kvarstår gör dock frågan: varför har normala cykliska ston AMH-koncentrationer på  $0,96 \pm 0,08$  µg/L (spridning 0,22–2,94 µg/L) (Almeida *et al.*, 2011) och i denna studie 1,1 µg/L, men ston med granulosa-cellstumör oftast >20 µg/L? Spannet mellan normal koncentration och den koncentration som de flesta ston med granulosa-cellstumör har (>20 µg/L) är stort. Varför många ston har värden som är högre än normalkoncentration utan att de har granulosa-cellstumör får bli föremål för framtida studier. Möjligen kan det ha att göra med avvikande follikeldynamik på något sätt, vilket gör att mängden granulosa-celler ökar och därmed även AMH-koncentrationen.

Beträffande den variation som bland ston kan ses mellan olika grupper av hästtyp och ålder skulle det kunna föranleda att referensintervallen ändrades. Detta kräver emellertid att fler, prospektiva, studier görs, inte retrospektiva som denna. Återigen ska nämnas att förutom att studiepopulationen är liten, har också alla haft indikation att provta AMH vilket innebär att urvalet inte kan anses representera hästpopulationen i stort.

Även för handjur kan laboratoriets referensvärden anses rimliga, då majoriteten av handjuren verkar ha mycket låga värden och då diagnostiserats vara valacker, medan de som är kryptorkida eller inte kastrerats korrekt och således har kvarbliven testikelvävnad har höga koncentrationer AMH.

Avslutningsvis kan konstateras att det kliniska värdet att analysera AMH främst ligger i att det kan bidra med information i de fall misstanke fattats om granulosa-cellstumör, kryptorkism eller kvarbliven testikelvävnad efter kastration. Det verkar dock i sig inte vara konklusivt att hos ston enbart ställa diagnos enbart utifrån analys av AMH då förhöjda nivåer inte alltid tycks vara synonymt med granulosa-cellstumör då det denna studie kunde konstateras att fyra av 16 ston med AMH-koncentration >4 µg/L inte ställde diagnosen granulosa-cellstumör, varför vikten av att väga in hela den kliniska bilden i varje enskilt fall kan belysas.

## POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Antimüllerskt hormon (AMH) är ett hormon som hos däggdjur har betydelse under fosterstadiet, då det medverkar i bildandet av fostrets könsorgan. Hos foster av hankön bildas hormonet och gör att de honliga anlagen till könsorgan tillbakabildas. Hos foster av honkön bildas hormonet inte alls, och således kvarstår de gångsystem som är groddbladen till de honliga könsorganen. AMH har också betydelse efter födseln då det hos honor medverkar i att reglera dynamiken med folliklar (äggblåsor) i äggstockarna, och hos hanar i regleringen av bildningen av spermier. Hos handjur minskar koncentrationen i blodet av AMH efter könsmognad, medan den hos hondjur ökar. Detsamma gäller för häst som är det djurslag som ligger i fokus för detta examensarbete.

Den vanligaste anledningen till att analysera AMH hos häst är hos ston en misstanke om att de har en tumör i äggstockarna bildad av en celltyp som heter granulosaaceller. Om stona har en granulosaacellstumör blir AMH-koncentrationen i blodet förhöjd då granulosaacellerna producerar AMH. Hos handjur är anledningen till analys av AMH vanligen misstanke om kryptorkism (att en eller båda testiklar inte vandrat ned till sitt normala läge i pungen), eller att hästen inte kastrerats korrekt utan har testikelvävnad kvar. Vid båda scenarier blir AMH-koncentrationen högre än för en valack.

Frågeställningen i detta examensarbete var om det går att dra mer säkra slutsatser beträffande vilka AMH-koncentrationer ett sto med granulosaacellstumör respektive en kryptorkid/inkorrekt kastrerad hingst har. Detta för att undersöka om de referensvärden som används på det kliniska kemiska laboratoriet på Universitetsdjursjukhuset (UDS) på Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) verkar korrekta. Dessutom undersöktes om det går att se att AMH-koncentrationen hos ston varierar med säsong (avelssäsong/icke-avelssäsong), ålder och hästtyp, detta med syftet att se om behov av säsong-, ålders- och/eller rasspecifika referensintervall kan föreligga. Resultatet i examensarbetet baseras dels på data insamlad i en enkät som skickades ut till enskilda veterinärer och veterinärkliniker som skickat in blodprov för analys av AMH, dels på data insamlad av det kliniska kemiska laboratoriet mellan åren 2016–2019 om de patienter där AMH analyserats.

När tillgängliga data analyserats går det att konstatera att det inte föreligger någon variation i AMH-koncentration mellan avelssäsong (april-september) och icke-avelssäsong (oktober-mars). Stona har alltså ungefär samma koncentrationer AMH oavsett när på året blodprovet tas. Dessutom gick det att konstatera en variation i AMH-koncentration mellan olika åldrar, där äldre ston hade en högre AMH-koncentration än yngre ston, något som var tydligast hos kallblod och ponny. Detta resultat står i skarp kontrast till tidigare studier gjorda på såväl hästar som andra djurslag – där AMH-koncentrationen har konstaterats minska med stigande ålder till följd av minskad äggstocksreserv. Det är möjligt att AMH-koncentrationen hos ston kan stiga av andra orsaker än att granulosaacellstumör föreligger, till exempel av avvikande follikeldynamik i äggstockarna som i så fall kan antas vara vanligare hos äldre än yngre ston. Detta stärks av att resultatet i enkäten, där de flesta stona som provtagits gjort det för att de haft ett avvikande beteende eller avvikande brunstbeteende, dock utan att kunna konstatera de kraftigt förhöjda AMH-koncentrationer som är vanliga då granulosaacellstumör föreligger. Det hade varit

intressant att undersöka samma sak med ett större provmaterial från kliniskt friska djur för att se om samma resultat skulle uppnås.

Utifrån resultaten i enkätstudien kan några slutsatser dras: Det är många som misstänker granulocellstumör, men i relation till det är det få som kan ställa diagnosen (55,7 % respektive 9,1 %). De flesta som misstänkte såväl granulocellstumör, som kryptorkism eller kvarbliven testikelvävnad efter kastration gjorde det på grund av att patienten hade avvikande beteende, där nämns bland annat hingstbeteende och svårhanterlighet, men för ston var även avvikande brunstbeteende relativt vanligt. Vissa hade även avvikande fynd vid rektal- eller ultraljudsundersökning men de är förhållandevis få.

Sammanfattningsvis kan konstateras att det verkar som att de referensvärden som används av laboratoriet på UDS verkar spegla verkligheten. Dock är det med den begränsade studiepopulationen svårt att dra säkra slutsatser, även om mycket pekar på att en gräns vid 4 µg/L för ston och en gräns vid 1 µg/L för handjur verkar vara relativt säkra gränser. Åldersvariationen hos ston i denna studie var något förvånande. Att döma av resultatet skulle det eventuellt föreligga behov av att göra en uppföljande studie med friska ston utan beteendeproblematik för att se om de har lägre AMH-koncentrationer än stona som innefattats i detta examensarbete som haft beteendeproblematik.

## LITTERATURFÖRTECKNING

- Ahmed, S.F. & McNeilly, J.D. (2014). CHAPTER 21 - Disorders of puberty and sex development. In: Marshall, W.J., *et al.* (Eds.) *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects (Third Edition)*. pp. 412-432 Churchill Livingstone. ISBN 978-0-7020-5140-1.
- Al-Qahtani, A., Muttukrishna, S., Appasamy, M., Johns, J., Cranfield, M., Visser, J.A., Themmen, A.P.N. & Groome, N.P. (2005). Development of a sensitive enzyme immunoassay for Anti-Müllerian hormone and the evaluation of potential clinical applications in males and females. *Clinical Endocrinology* 63(3), 267-273.
- Almeida, J., Ball, B.A., Conley, A.J., Place, N.J., Liu, I.K.M., Scholtz, E.L., Mathewson, L., Stanley, S.D. & Moeller, B.C. (2011). Biological and clinical significance of Anti-Müllerian hormone determination in blood serum of the mare. *Theriogenology* 76(8), 1393-1403.
- Almeida, J., Conley, A.J. & Ball, B.A. (2013). Expression of Anti-Müllerian hormone, CDKN1B, connexin 43, androgen receptor and steroidogenic enzymes in the equine cryptorchid testis. *Equine Veterinary Journal* 45(5), 538-545.
- Bailey, M.T., Troedsson, M.H.T. & Wheaton, J.E. (2002). Inhibin concentrations in mares with granulosa cell tumors. *Theriogenology* 57(7), 1885-1895.
- Ball, B.A., Almeida, J. & Conley, A.J. (2013). Determination of serum Anti-Müllerian hormone concentrations for the diagnosis of granulosa-cell tumours in mares. *Equine Veterinary Journal* 45(2), 199-203.
- Ball, B.A., Conley, A.J., Grundy, S.A., Sabeur, K. & Liu, I.K.M. (2008a). Expression of Anti-Müllerian hormone (AMH) in the equine testis. *Theriogenology* 69(5), 624-631.
- Ball, B.A., Conley, A.J., Maclaughlin, D.T., Grundy, S.A., Sabeur, K. & Liu, I.K.M. (2008b). Expression of Anti-Müllerian hormone (AMH) in equine granulosa-cell tumors and in normal equine ovaries. *Theriogenology* 70(6), 968-977.
- Behringer, R.R., Finegold, M.J. & Cate, R.L. (1994). Müllerian-inhibiting substance function during mammalian sexual development. *Cell* 79(3), 415-25.
- Bosu, W.T., Van Camp, S.C., Miller, R.B. & Owen, R.R. (1982). Ovarian disorders: clinical and morphological observations in 30 mares. *The Canadian Veterinary Journal (La Revue Veterinaire Canadienne)* 23(1), 6-14.
- Browne, N.S., Scarratt, W.K. & Robertson, J. (2016). Hypertrophic osteopathy secondary to metastatic ovarian adenocarcinoma in a mare. *Canadian Veterinary Journal (La Revue Veterinaire Canadienne)* 57(12), 1237-1241.
- Carmina, E., Stanczyk, F.Z. & Lobo, R.A. (2019). Chapter 34 - Evaluation of hormonal status. In: Strauss, J.F., *et al.* (Eds.) *Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology*, Eighth Edition. pp. 887-915.e4. Philadelphia: Content Repository Only! ISBN 978-0-323-47912-7.
- Caron, J.P., Barber, S.M. & Bailey, J.V. (1985). Equine testicular neoplasia. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 7(1), S53-&.
- Claes, A., Ball, B.A., Almeida, J., Corbin, C.J. & Conley, A.J. (2013). Serum Anti-Müllerian hormone concentrations in stallions: Developmental changes, seasonal variation, and differences between intact stallions, cryptorchid stallions, and geldings. *Theriogenology* 79(9), 1229-1235.

- Claes, A., Ball, B.A., Corbin, C.J. & Conley, A.J. (2014). Anti-Müllerian hormone as a diagnostic marker for equine cryptorchidism in three cases with equivocal testosterone concentrations. *Journal of Equine Veterinary Science* 34(3), 442-445.
- Claes, A., Ball, B.A., Scoggin, K.E., Esteller-Vico, A., Kalmar, J.J., Conley, A.J., Squires, E.L. & Troedsson, M.H.T. (2015). The interrelationship between Anti-Müllerian hormone, ovarian follicular populations and age in mares. *Equine Veterinary Journal* 47(5), 537-541.
- Claes, A.N.J. & Ball, B.A. (2016). Biological functions and clinical applications of anti-müllerian hormone in stallions and mares. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 32(3), 451-464.
- Clark, T.L. (1975). Clinical management of equine ovarian neoplasms. *Journal of Reproduction and Fertility*, 331-334.
- Cotchin, E. (1977). A general survey of tumours in the horse. *Equine Veterinary Journal* 9(1), 16-21.
- Cox, J.E. (1975). Experiences with a diagnostic test for equine cryptorchidism. *Equine Veterinary Journal* 7(4), 179-183.
- Cox, J.E., Redhead, P.H. & Dawson, F.E. (1986). Comparison of the measurement of plasma testosterone and plasma oestrogens for the diagnosis of cryptorchidism in the horse. *Equine Veterinary Journal* 18(3), 179-182.
- Cox, J.E., Williams, J.H., Rowe, P.H. & Smith, J.A. (1973). Testosterone in normal, cryptorchid and castrated male horses. *Equine Veterinary Journal* 5(2), 85-90.
- de Ban, N.E. (1970). Castration of horses and complications arising from this procedure. *Veterinary Record* 87(17), 502-4.
- Durlinger, A.L.L., Gruijters, M.J.G., Kramer, P., Karels, B., Ingraham, H.A., Nachtigal, M.W., Uilenbroek, J.T.J., Grootegoed, J.A. & Themmen, A.P.N. (2002). Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 143(3), 1076-1084.
- Durlinger, A.L.L., Gruijters, M.J.G., Kramer, P., Karels, B., Kumar, T.R., Matzuk, M.M., Rose, U.M., de Jong, F.H., Uilenbroek, J.T.J., Grootegoed, J.A. & Themmen, A.P.N. (2001). Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of fsh on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology* 142(11), 4891-4899.
- Durlinger, A.L.L., Kramer, P., Karels, B., de Jong, F.H., Uilenbroek, J.T.J., Grootegoed, J.A. & Themmen, A.P.N. (1999). Control of primordial follicle recruitment by anti-müllerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology* 140(12), 5789-5796.
- Dyce, K.M., Sack, W.O. & Wensing, C.J.G. (2010). *Textbook of Veterinary Anatomy*. 4. ed. St. Louis, Missouri: Saunders (an imprint of Elsevier Inc.).
- Ellenberger, C., Bartmann, C.P., Hoppen, H.O., Kratzsch, J., Aupperle, H., Klug, E., Schoon, D. & Schoon, H.A. (2007). Histomorphological and immunohistochemical characterization of equine granulosa cell tumours. *Journal of Comparative Pathology*. 136(2-3), 167-176.
- Giwercman, A., Grindsted, J., Hansen, B., Jensen Ole, M. & Skakkebaek Niels, E. (1987). Testicular cancer risk in boys with maldescended testis: A cohort study. *Journal of Urology* 138(5), 1214-1216.
- Groome, N.P., Cranfield, M., Themmen, A.P.N., Savjani, G.V. & Mehta, K. (2011). Immunological assay and antibodies for Anti-Müllerian hormone. In. *Google Patents*.



- Hayes, H.M. (1986). Epidemiological features of 5009 cases of equine cryptorchism. *Equine Veterinary Journal* 18(6), 467-471.
- Held, J.P., Buergelt, C. & Colahan, P. (1982). Serous cystadenoma in a mare. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 181(5), 496-498.
- Hinrichs, K. & Hunt, P.R. (1990). Ultrasound as an aid to diagnosis of granulosa cell tumour in the mare. *Equine Veterinary Journal* 22(2), 99-103.
- Holst, B.S. (2017). Diagnostic possibilities from a serum sample - Clinical value of new methods within small animal reproduction, with focus on Anti-Müllerian hormone. *Reproduction in Domestic Animals* 52 Suppl 2, 303-309.
- Holst, B.S. & Dreimanis, U. (2015). Anti-Müllerian hormone: a potentially useful biomarker for the diagnosis of canine Sertoli cell tumours. *BMC Veterinary Research* 11(1).
- Ireland, J.L.H., Scheetz, D., Jimenez-Krassel, F., Themmen, A.P.N., Ward, F., Lonergan, P., Smith, G.W., Perez, G.I., Evans, A.C.O. & Ireland, J.J. (2008). Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. *Biology of Reproduction* 79(6), 1219-1225.
- Isidori, A.M., Giannetta, E. & Lenzi, A. (2008). Male hypogonadism. *Pituitary* 11(2), 171-180.
- Josso, N., Racine, C., Di Clemente, N., Rodolfo, R. & Xavier, F. (1998). The role of anti-Müllerian hormone in gonadal development. *Molecular and Cellular Endocrinology* 145(1-2), 3-7.
- Knottenbelt, D.C., Patterson-Kane, J.C. & Snalune, K.L. (2015). Gonadal neoplasms. In: *Clinical Equine Oncology*. pp. 393-405 Elsevier.
- Kumar, A., Kalra, B., Patel, A., McDavid, L. & Roudebush, W.E. (2010). Development of a second generation Anti-Müllerian hormone (AMH) ELISA. *Journal of Immunological Methods* 362(1), 51-59.
- Kumar, A., Kalra, B., Patel, A.S. & Shah, S. (2103). New sensitive Anti-Müllerian hormone (AMH) elisas for non-human primate, rodent, equine, bovine, canine and other species. In: *Proceedings of American Association for Clinical Chemistry*, Houston, Texas.
- Lee, M.M. & Donahoe, P.K. (1993). Müllerian inhibiting substance: A gonadal hormone with multiple functions\*. *Endocrine Reviews* 14(2), 152-164.
- Li, H.W.R., Ng, E.H.Y., Wong, B.P.C., Anderson, R.A., Ho, P.C. & Yeung, W.S.B. (2012). Correlation between three assay systems for anti-Müllerian hormone (AMH) determination. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 29(12), 1443-1446.
- Lindskog, B.I. (2008). Kryptorkism. *Medicinsk ordbok*. p. 344.
- Long, W.-Q., Ranchin, V., Pautier, P., Belville, C., Denizot, P., Cailla, H., Lhommé, C., Picard, J.-Y., Bidart, J.-M. & Rey, R. (2000). Detection of minimal levels of serum Anti-Müllerian hormone during follow-up of patients with ovarian granulosa cell tumor by means of a highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 85(2), 540-544.
- Marshall, J.F., Moorman, V.J. & Moll, H.D. (2007). Comparison of the diagnosis and management of unilaterally castrated and cryptorchid horses at a referral hospital: 60 cases (2002-2006). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 231(6), 931-4.
- Maxwell, J. (2005). Equine hemi-castration: review of the condition, prevalence, aetiology, diagnosis and surgical management. *Australian Veterinary Journal* 83(4), 203-207.

- McCue, P.M. (1998a). Neoplasia of the female reproductive tract. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 14(3), 505-515.
- McCue, P.M. (1998b). Review of ovarian abnormalities in the mare. *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP* [online], 44, 125-133. Available from: <http://www.ivis.org/proceedings/aaep/1998/mccue.Pdf>.
- McCue, P.M., Roser, J.F., Munro, C.J., Liu, I.K.M. & Lasley, B.L. (2006). Granulosa cell tumors of the equine ovary. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 22(3), 799-817.
- McEntee, K. (1990). Ovarian neoplasms. In. *Reproductive Pathology of Domestic Mammals*. San Diego (CA): Academic Press. p. 69–93
- Meagher, D.M., Wheat, J.D., Hughes, J.P., Stabenfeldt, G.H. & Harris, B.A. (1978). Granulosa cell tumors in mares - a review of 78 cases. In: Milne, F.J. (Ed.) *Proceedings of the 23rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Vancouver, British Columbia, December 1977*. Guelph, Ontario, Canada: c/o Dr F.J. Milne, Ontario Veterinary College.
- Meinecke, B. & Gips, H. (1987). Steroid hormone secretory patterns in mares with granulosa cell tumours. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 34(1-10), 545-560.
- Monniaux, D., Barbey, S., Rico, C., Fabre, S., Gallard, Y. & Larroque, H. (2010). Anti-Müllerian hormone: a predictive marker of embryo production in cattle. *Reproduction, Fertility and Development* 22(7), 1083-1091.
- Mueller, P.O.E. & Parks, A.H. (1999). Cryptorchidism in horses. *Equine Veterinary Education* 11(2), 77-86.
- Munsterberg, A. & Lovell-Badge, R. (1991). Expression of the mouse Anti-Müllerian hormone gene suggests a role in both male and female sexual differentiation. *Development* 113(2), 613-624.
- Murase, H., Saito, S., Amaya, T., Sato, F., Ball, B.A. & Nambo, Y. (2015). Anti-Müllerian hormone as an indicator of hemi-castrated unilateral cryptorchid horses. *Journal of Equine Science* 26(1), 15-20.
- Nagamine, N., Nambo, Y., Nagata, S.-i., Nagaoka, K., Tsunoda, N., Taniyama, H., Tanaka, Y., Tohei, A., Watanabe, G. & Taya, K. (1998). Inhibin secretion in the mare: Localization of inhibin  $\alpha$ ,  $\beta$ <sub>a</sub>, and  $\beta$ <sub>b</sub> subunits in the ovary. *Biology of Reproduction* 59(6), 1392-1398.
- Nambo, Y., Nagata, S., Oikawa, M., Yoshihara, T., Tsunoda, N., Kohsaka, T., Taniyama, H., Watanabe, G. & Taya, K. (1996). High concentrations of immunoreactive inhibin in the plasma of mares and fetal gonads during the second half of pregnancy. *Reproduction, Fertility and Development* 8(8), 1137-45.
- Nationalencyklopedin (u.å). *Klapphingst*. Tillgänglig: <http://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/lång/klapphingst> [2020-01-22].
- Nelson, S.M. & La Marca, A. (2011). The journey from the old to the new AMH assay: how to avoid getting lost in the values. *Reproductive BioMedicine Online* 23(4), 411-420.
- Pauwels, F., Wigley, S., Munday, J. & Roe, W. (2012). Bilateral ovarian adenocarcinoma in a mare causing haemoperitoneum and colic. *New Zealand Veterinary Journal* 60(3), 198-202.
- Piquette, G.N., Kenney, R.M., Sertich, P.L., Yamoto, M. & Hsueh, A.J.W. (1990). Equine granulosa-theca cell tumors express inhibin  $\alpha$ - and  $\beta$ -subunit messenger ribonucleic acids and proteins. *Biology of Reproduction* 43(6), 1050-1057.

- Place, N.J., Hansen, B-S., Cheraskin, J.-L., Cudney, S.E., Flanders, J.A., Newmark, A.D., Barry, B. & Scarlett, J.M. (2011). Measurement of serum anti-Müllerian hormone concentration in female dogs and cats before and after ovariohysterectomy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 23(3), 524-527.
- Priester, W.A., Glass, A.G. & Waggoner, N.S. (1970). Congenital defects in domesticated animals: general considerations. *American Journal of Veterinary Research* 31, 1871-1879.
- Racine, C., Rey, R., Forest, M.G., Louis, F., Ferre, A., Huhtaniemi, I., Josso, N. & Di Clemente, N. (1998). Receptors for Anti-Mullerian hormone on Leydig cells are responsible for its effects on steroidogenesis and cell differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95(2), 594-599.
- Raeside, J.I. (1979). Seasonal changes in the concentration of estrogens and testosterone in the plasma of the stallion. *Animal Reproduction Science* 1(3), 205-212.
- Reif, J.S., Maguire, T.G., Kenney, R.M. & Brodey, R.S. (1979). A cohort study of canine testicular neoplasia. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 175(7), 719-23.
- Rico, C., Fabre, S., Medigue, C., Clemente, N.D., Clement, F., Bontoux, M., Touze, J.L., Dupont, M., Briant, E., Remy, B., Beckers, J.F. & Monniaux, D. (2009). Anti-Mullerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biology of Reproduction* 80(1), 50-59.
- Rota, A., Ballarin, C., Vigier, B., Cozzi, B. & Rey, R. (2002). Age dependent changes in plasma Anti-Müllerian hormone concentrations in the bovine male, female, and freemartin from birth to puberty: relationship between testosterone production and influence on sex differentiation. *General and Comparative Endocrinology* 129(1), 39-44.
- Scarlet, D., Wulf, M., Kuhl, J., Kohne, M., Ille, N., Conley, A.J. & Aurich, C. (2018). Anti-Mullerian hormone profiling in prepubertal horses and its relationship with gonadal function. *Theriogenology* 117, 72-77.
- Schlafer, D.H. & Foster, R.A. (2016). Chapter 4 - Female genital system. In: Maxie, M.G. (Ed.) *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 3 (Sixth Edition)*. pp. 358-464.e1 W.B. Saunders. ISBN 978-0-7020-5319-1.
- Schumacher, J. (1999). Testicular neoplasia of horses: an underreported condition. *Equine Veterinary Journal* 31(4), 270-272.
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O. & Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. 2. ed. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Stabenfeldt, G.H., Hughes, J.P., Kennedy, P.C., Meagher, D.M. & Neely, D.P. (1979). Clinical findings, pathological changes and endocrinological secretory patterns in mares with ovarian tumours. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement* (27), 277-285.
- Stickle, R.L., Erb, R.E., Fessler, J.F. & Runnels, L.J. (1975). Equine granulosa cell tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 167(2), 148-151.
- Stickle, R.L. & Fessler, J.F. (1978). Retrospective study of 350 cases of equine cryptorchidism. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 172(3), 343-346.
- Sundberg, J.P., Burnstein, T., Page, E.H., Kirkham, W.W. & Robinson, F.R. (1977). Neoplasms of equidae. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 170(2), 150-2.

- Van Helden, J. & Weiskirchen, R. (2015). Performance of the two new fully automated anti-Müllerian hormone immunoassays compared with the clinical standard assay. *Human Reproduction* 30(8), 1918-1926.
- Vancamp, S.D., Mahler, J., Roberts, M.C., Tate, L.P. & Whitacre, M.D. (1989). Primary ovarian adenocarcinoma associated with teratomatous elements in a mare. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 194(12), 1728-1730.
- Vigier, B., Tran, D., Legeai, L., Bezard, J. & Josso, N. (1984). Origin of Anti-Mullerian hormone in bovine freemartin fetuses. *Reproduction* 70(2), 473-479.
- Vigier, B., Watrin, F., Magre, S., Tran, D. & Josso, N. (1987). Purified bovine AMH induces a characteristic freemartin effect in fetal rat prospective ovaries exposed to it in vitro. *Development* 100(1), 43-55.
- Visser, J.A., Durlinger, A.L.L., Peters, I.J.J., van den Heuvel, E.R., Rose, U.M., Kramer, P., de Jong, F.H. & Themmen, A.P.N. (2007). Increased oocyte degeneration and follicular atresia during the estrous cycle in anti-müllerian hormone null mice. *Endocrinology* 148(5), 2301-2308.
- Vogelsang, M.M., Kraemer, D.C., Potter, G.D. & Stott, G.G. (1987). Fine structure of the follicular oocyte of the horse. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 35, 157-67.
- Wallace, A.M., Faye, S.A., Fleming, R. & Nelson, S.M. (2011). A multicentre evaluation of the new Beckman Coulter anti-Mullerian hormone immunoassay (AMH Gen II). *Annals of Clinical Biochemistry* 48(Pt 4), 370-3.
- Watson, E.D., Heald, M., Leask, R., Groome, N.P. & Riley, S.C. (2010). Detection of high circulating concentrations of inhibin pro- and - $\alpha$ C immunoreactivity in mares with granulosa-theca cell tumours. *Equine Veterinary Journal* 34(2), 203-206.
- Watson, E.D. & Thomson, S.R.M. (1996). Immunolocalization of aromatase P-450 in ovarian tissue from pregnant and nonpregnant mares and in ovarian tumours. *Reproduction* 108(2), 239-244.
- Wild, D. (2013). *The Immunoassay Handbook: Theory and applications of ligand binding, ELISA and related techniques*. 4. ed. Oxford: Elsevier.
- Zachary, J.F. & McGavin, M.D. (2012). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 5. ed. St. Louis, Missouri: Mosby, Inc. (an affiliate of Elsevier Inc.).

## BILAGA 1 – ENKÄTUNDERSÖKNING

Enkät om Anti-Mülleriskt hormon på häst  
*Examensarbete, veterinärprogrammet 2019*

Kul att du vill delta! Enkäten är på fyra sidor, totalt åtta frågor. Den tar ca 2 minuter att fylla i.  
**Observera att enkäten behöver fyllas i en gång per inskickat prov.**

För att starta undersökningen - tryck på "Starta undersökningen" i nedre högre hörnet.



[Studenter SLU](#) · [Juridisk information](#)

Survey powered  
by Netigate



BÖRJA UNDERSÖKNINGEN



Figur 13. Sida 1 av enkätundersökningen.

## 1. Bakgrundsinformation

Klinik

Skriv ditt svar här...

Patient

Skriv ditt svar här...

Vilken indikation låg bakom analysen av Anti-Mülleriskt hormon (AMH) hos patienten?

- Misstanke äggstockstumör
- Misstanke kryptorkism
- Misstanke kvarbliven testikelvävnad efter kastration
- Annat:

Figur 14. Sida 2 av enkätundersökningen.

## 2. Grund för misstanken

Misstanken om äggstockstumör grundades på:

- Avvikande beteende
- Avvikande fynd vid rektalundersökning
- Avvikande fynd vid ultraljudsundersökning
- Avvikande brunstbeteende
- Annat:

Misstanken om kryptorkism grundades på:

- Avvikande beteende
- Avvikande fynd vid rektalundersökning
- Avvikande fynd vid ultraljudsundersökning
- Annat:

Misstanken om kvarbliven testikelvävnad efter kastration grundades på:

- Avvikande beteende
- Avvikande fynd vid rektalundersökning
- Avvikande fynd vid ultraljudsundersökning
- Annat:

Vilka kliniska tecken hos patienten gjorde att AMH-analysen skickades in?

Skriv ditt svar här...

Figur 15. Sida 3 av enkätundersökningen. Observera att respondenten enbart kunde besvara en av ovanstående frågor beroende på vad denne svarat om vilken indikation som låg bakom AMH-analysen.

### 3. Diagnos

Vilken blev den slutliga diagnosen?

- Äggstockstumör
- Kryptorkism
- Kvarbliven testikelvävnad efter kastration
- Vet ej/ställde ej diagnos
- Annat:

Användes fler diagnostiska metoder, utöver AMH-analysen, för att komma fram till diagnosen?

- Nej
- Ja, rektalundersökning
- Ja, ultraljudsundersökning
- Ja, analys av östronsulfat
- Annat:

Figur 16. Sida 4 av enkätundersökningen.



## 4. Behandling

Sattes behandling in?

- Nej
- Ja, kulor i livmodern
- Ja, kirurgisk (avlägsande av äggstock/kryptorkid testikel/kvarbliven testikelvävnad)
- Ja, medicinsk (progesteron)
- Ja, annan:

Gav behandlingen önskat resultat?

- Ja
- Nej
- Vet ej

Figur 16. Sida 5 av enkätundersökningen.

**Stort tack för ditt deltagande! Resultaten av studien blir tillgängliga under våren 2020.**

Powered by

**Netigate** 

Studenter SLU · Juridisk information

Figur 17. Sida 6 av enkätundersökningen.