



Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

# Granulosacelltumörer och dess endokrina påverkan på ston

*Louise Ovesen*



---

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011:15

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2011

---





Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

## Granulosacelltumörer och dess endokrina påverkan på ston

Granulosa cell tumours and their endocrine influence in mares

*Louise Ovesen*

**Handledare:**

Ebba Nilsson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap  
Rodrigo Grandon, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Examinator:**

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 15 hp

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX0700

**Program:** Veterinärprogrammet

**Nivå:** Grund, G2E

**Utgivningsort:** SLU Uppsala

**Utgivningsår:** 2011

**Omslagsbild:** Louise Ovesen

**Serienamn, delnr:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011:15  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

**On-line publicering:** <http://epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** Granulosacelltumör, Thecacelltumör, Äggstockstumör, Beteendeförändringar, hormonförändringar, testosteron, inhibin

**Key words:** Granulosa cell tumour, Theca cell tumour, ovarian neoplasms, behaviour, testosterone, inhibin

## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning .....	1
Summary .....	2
Inledning.....	3
Material och metoder .....	3
Litteraturoversikt.....	3
Patologi.....	3
Klinisk bild.....	4
Morfologi .....	4
Histologi äggstock.....	5
Endokrinologi .....	6
Normal GnRH, FSH och LH funktion .....	6
LH- och FSH-koncentrationer vid GCT och GTCT .....	7
Förhöjda nivåer av testosteron .....	7
Förhöjda nivåer av inhibin .....	8
Östrogen .....	8
Progesteron.....	9
Beteendestörningar.....	9
Diagnos .....	9
Differentialdiagnos.....	10
Återhämtning .....	10
Diskussion .....	10
Litteraturförteckning .....	13

## **SAMMANFATTNING**

2,5% av alla tumörsjukdomar som drabbar ston är granulosacelltumörer eller granulosa-theacelltumörer. Tumörerna är hormonproducerande och påverkar även hormonutsöndringen i andra endokrina organ. Med en påverkan på brunstcykeln och temperament hos hästen kan de utgöra ett stort problem för hästägaren och hästarna inkommer ofta till klinikerna med just dessa problem. Det är först då som tumören upptäcks. En ökad utsöndring av inhibin påverkar FSH produktionen som sjunker under normalt. Den äggstock som ej är tumörpåverkad blir då atrofisk och ingen follikelutveckling sker. En minskad FSH produktion påverkar även aromatas-enzymkomplexet i granulosacellerna vilket gör att ingen aktivering av detta sker. Eftersom aromataskomplexet inte aktiveras ses inte en lika stor omvandling av testosteron till östrogen som annars normalt skulle ha setts hos friska hästar. En ökad testosteronproduktion påverkar hästarnas temperament och de blir aggressiva samt svårhanterliga. Efter kirurgisk avlägsning av tumören ses oftast en återgång till normalt beteende och efter en tid ses ofta även normal brunst. Det är viktigt att förstå hur hormoner produceras av tumörerna och varför de har stor inverkan på hästarna för att ställa diagnos och inte feltolka symptom.

## **SUMMARY**

2,5% of all tumours that affect mares are granulosa cell tumours and granulosa theca cell tumours. The tumours produce hormones and also affect hormone production in other endocrine organs. The effect on the mares usually manifest as prolonged anestrus and intermittent estrus, but also as aggressive behaviour and temperamental changes. This can present a big problem for owners and horses usually come in to clinics because of these issues. This is when the tumours are first detected. An increased production of inhibin affects the secretion of FSH which decreases to levels under what is considered normal. The normal ovary becomes small and inactive as a consequence of no FSH stimulation. FSH activates the aromatase enzyme complex in the granulosa cells which is required for conversion of testosterone to estrogen. Since very little FSH is present, this activation and conversion will not happen to the same extent as normal. An increased testosterone concentration affects the temperament of the horses in a negative way making them more aggressive and hard to handle. Surgical removal of the tumour usually results in resumption of normal follicular development and usually leads to normal ovulation and estrus. Removal of the tumour also brings about a positive temperament change and the aggressive behaviour usually stops.

## **INLEDNING**

Äggstockarna är viktiga organ i regleringen av hormonproduktion och brunstcykeln hos däggdjur. Den endokrina rollen som äggstockarna har blir väldigt tydlig när sjukdom eller tumörutveckling sker i vävnaden och det är den aspekten som gör tumörutvecklingen väldigt intressant. Effekter på brunstcykel och temperament kan tydligt ses i många fallrapporter från bland annat Meagher et al. (1977), Stabenfeldt et al. (1979), Bosu et al. (1982) Piquette et al (1990), Sedrish et al (1997) med flera och det ger en insikt i hur delikat uppbyggt brunstregleringen verkligen är. Den övervägande litteratur som finns på granulosaacelltumörer avhandlar specifika fall som inkommit till kliniker runt om i världen och ofta är det retrospektiva studier gjorda av universitet eller veterinärer som skrivit rapport om specifika fall (Bosu et al., 1982) En av de största retrospektiva studierna som gjorts avhandlar 78 hästar (Meagher et al., 1977). Av intresse för veterinärer är tumörerna i bland annat fertilitetssyfte, och ofta krävs operation för att återfå normal funktion och brunstcykel (Bosu et al., 1982). För att få en förståelse för effekten tumören har på de endokrina processerna hos hästen krävs kunskap om tumörernas patologiska och histologiska bild. Denna uppsats avser att fördjupa sig i hur uppbyggnaden av tumören påverkar hormonbalansen hos ston och ger beteende samt fertilitetsstörningar.

## **MATERIAL OCH METODER**

I sökningen av material användes databaserna Pubmed, Web of Knowledge och ScienceDirect. De första sökorden som användes var "horse\*", "equine\*", "ovarian neoplasm", "tumo\*", "behavio\*" och "ovary". Denna sökning utökades senare med "testosterone", "hormone", "granulosa" och "thecacell" efter genomläsning av de först funna artiklarna. Tumör trunkerades ner till "tumo\*" för att få med både den amerikanska och brittiska stavningen av tumör. Detta ledde till att fler och mer specifika artiklar hittades. Då mer grundläggande fakta behövdes konsulterades facklitteratur som finns redovisad i referenslistan. I de fall där informationen var refererat till äldre material har sökning i biblioteket skett efter originalartiklarna som ej fanns publicerade online.

## **LITTERATURÖVERSIKT**

### **Patologi**

Granulosaacelltumörer (GCT) är de vanligaste äggstockstumörerna hos ston och står för 2,5% av alla tumorsjukdomar som diagnosticeras på häst. (Sundberg et al., 1977; Noakes et al., 2009) GCT har påvisats hos hästar i alla åldersgrupper (Meagher et al., 1977; Bosu et al., 1982; Noakes et al., 2009) men rapporter angående vilken åldersgrupp som drabbas mest skiljer sig mellan studier. Det finns de som visat att det oftare är hästar under 10 år som drabbas (Ellenberger et al., 2007), medan andra tyder på att äldre hästar drabbas (Meagher et al., 1977). GCT är för det mesta benigna och metastaserar sällan (Stabenfeldt et al., 1979). I en retrospektiv studie av Meagher et al. (1977) hade bara 1 av 78 hästar med GTC en malign form. Oftast ses då metastasering till omentum majous, mesenteriet, levern och mjälten (Gift et al., 1992; Ellenberger et al., 2007). För det mesta benämns tumörerna

granulosacelltumörer (GCT) men då thecaceller ofta utgör en viktig del av tumören brukar de även kallas för granulosa-thecacelltumörer (GTCT) (Stabenfeldt et al., 1979).

Ingen predisponering för vilken äggstock som oftast drabbas finns då studier visar att båda äggstockarna kan påverkas med lika stor sannolikhet (Meagher et al., 1977) dock är den kontralaterala äggstocken nästan alltid liten och inaktiv. Detta har visats i flera studier och fallrapporter (Meagher et al., 1977; Stabenfeldt et al., 1979; Bosu et al., 1982; Hinrichs & Hunt 1990; Piquette et al., 1990; Noakes et al., 2009; Hoque et al., 2003). Rapporterna visar även att den kontralaterala äggstocken oftast återfår normal funktion efter avlägsning av den tumörpåverkade äggstocken. Detta har lett till spekulationer att GCT och GTCT producerar hormoner som inhiberar gonadotropinutsöndring (Piquette et al., 1990). Rapporter har visat att alla tumörer av denna typ har förmågan att producera hormon (Stabenfeldt et al., 1979; MacLachlan, 1987) och testosteron samt inhibinkoncentrationen är ofta förhöjd hos ston med GCT och GTCT (Hoque et al., 2003).

Hästar har varit dräktiga vid operation för GCT vilket i de fallen tyder på att tumören antingen uppkommit efter fertilisering, eller att stoet har blivit dräktiga innan tumören påverkade hästen systemiskt. Vid operation av dessa hästar aborterade stona fölen. (Bosu et al., 1982)

### **Klinisk bild**

Ofta inkommer hästar till kliniken på grund av reproduktionsstörningar eller förändringar i temperament och sexuellt beteende (Bosu et al., 1982; Watson et al., 2002). Beteendeförändringarna inkluderar nymfomani och hingstigt beteende som avgivning av ljud i form av gnäggningar, frustningar och tjut i närheten av andra hästar, böjd nacke och försök till kopulation med andra ston. De blir även aggressiva mot andra hästar och mot människor och de blir ofta också mer svårhanterliga (Meagher et al., 1977, Bosu et al., 1982; Watson et al., 2002.) Beteendepåverkningar verkar vara vanligt förekommande vid denna typ av tumör då en studie rapporterade att 29 av 78 hästar visade hingstigt beteende (Meagher et al., 1977). I en annan rapport visade 11 av 34 ston hingstigt beteende (Ellenberger et al., 2007). Ibland kan även yttre fysiska tecken på maskulinisering ses, t.ex. kan de ha en förtjockning över nacken och ha en förstorad klitoris (Stickle et al., 1975). Reproduktionsstörningarna inkluderar persistent anöstrus, persistent östrus och infertilitet (Meagher et al., 1977; Bosu et al., 1982; Ellenberger et al., 2007). I några fall inkommer hästarna till kliniken med symptom som är helt orelaterade till reproduktionsorganen, tex p.g.a. buksmärtor, anemi och mer ovanligt på grund av hälta (Gift et al., 1992, Noakes et al., 2009). I en rapport av Gift et al. (1992) kom en häst in till klinik efter två dagars hälta. Detta verkade bero på att tumören omringat nerverna till benet och orsakat kompression i området runt de fjärde och femte lumbarnerverna. Men utöver detta sågs inga andra symptom.

### **Morfologi**

Tumörerna har rapporterats i storleksordning från 3,5 till 40 cm, där majoriteten ligger runt 10-20 cm (Cordes, 1969; Meagher et al., 1977; Piquette et al., 1990). Vikten på tumören varierar mycket, från 300 gram till 36 kg (Bosu et al., 1982; Piquette et al., 1990). Till utseende är de ofta ovala eller sfäriska i formen med lobulerad yta och innesluten i en tunn



fibrös kapsel (Cordes, 1969; Stickle et al., 1975; Watson et al., 2002). På ytan kan ibland ses svarta nekrotiska områden (Sedrish et al., 1997). Den normala strukturen i den påverkade äggstocken kan vara helt förstörda, sammantryckta och ovulationsfossan är svår att detektera (Stabenfeldt et al., 1979; Bosu et al., 1982). Efter genomskärning var tumörerna antingen multicystiska eller helt solida, ofta grågula med områden av nekros och blödningar (Bosu et al., 1982, Cordes, 1969). Områden som ser helt solida ut kan bestå av mikroskopiska cystor (Stabenfeldt et al., 1979). I cystorna återfanns ofta vätska (Bosu et al., 1982) som för det mesta var gulfärgad men i vissa fall röd på grund av blodpigment eller färsk blod (Cordes, 1969; Stabenfeldt et al., 1979).

## **Histologi äggstock**

### *Normal bild*

Äggstockarna hos hästar består normalt av ett yttre platt eller kubiskt epitel som skyddar mörgen. Mörgen består av lös bindväv som är mycket kärlik. Innanför mörgen ligger barken. Barken innehåller folliklarna som befinner sig i olika stadium av utveckling. Hos andra däggdjur ligger barken ytterst och mörgen i mitten.

När folliklarna utvecklas bildas olika celllager runt oocyten. Vid hormonsignaler börjar follikeln att växa och utvecklas. Först omges oocyten av zona pellucida och membrangranulosaceller, men vid ytterligare tillväxt omges oocyten av zona pellucida, cumulus oophorus- ett tjockt lager granulosaceller, och ett stort antrum. Det som bekläder antrum är flera lager granulosaceller. Två lager av thecaceller – theca interna och theca externa, ligger utanför granulosacellagret. Efter ovulation multipliceras, hypertrofieras och differentieras granulosacellerna och thecacellerna till granulosa-luteinceller och theca-luteinceller. Dessa celler producerar progesteron (Bacha & Bacha, 2006).

### *Neoplastisk bild*

Det finns många olika rapporter på GCT och GTCT hos häst och tumörerna i rapporterna skiljer sig ofta åt. Det mikroskopiska utseendet varierar mellan och även inom samma tumör. Både granulosa- och theca internalagret kan vara involverat i tumören, antingen samtidigt eller var för sig. Oftast är det granulosacellagret som påverkas mest (Noakes et al., 2009). Tumörerna är oftast polycystiska och cystorna liknar oorganiserade försök till follikelbildning (MacLachlan, 1987).

Ofta ligger granulosaceller som första skikt mot cystorna och lagret kan vara flera lager tjockt. Ibland kan de även vara arrangerade i trabekulära mönster eller i ö-formationer medan i andra fall förekommer granulosacellerna mest i separata grupper (Cordes, 1969; Piquette et al., 1990). Ibland var cellerna arrangerade i follikulära mönster utan tydlig gräns till det cystiska området. Fynd av granulosaceller i vätskan i cystorna förekommer också (Cordes, 1969). Cellerna kan vara pleomorfa (Stabenfeldt et al., 1979) och ha cytoplasman med skarpa kanter ( Gift et al., 1992). I andra fall kan cellerna anta en mer kuboidal eller avlång form. Cellerna kan vara arrangerade i stjärn- eller rosettförmationer i närheten av kärl (Piquette et al., 1990) och ofta ses fler än 5 mitoser per område i 100x förstoring ( Gift et al., 1992).

Utanför granulosa cellerna ses ofta oregelbundet stödjande stroma med celler som ofta klassificeras som thecaceller (MacLachlan, 1987). Thecacellerna bildar ofta en stor del av det parenkym som omger tumören (Cordes, 1969). De växer ofta parallellt med granulosa cellerna men kan även separeras från granulosa cellerna av ett tjockt basalmembran (Piquette et al., 1990). I de fall där granulosa cellerna förekommer i distinkta grupper avskiljades de endast svagt från thecacellerna runt omkring (Cordes, 1969).

Thecacellerna har ofta akromatiska kärnor och en otydlig cytoplasma. Dessa celler har liknats vid Leydig-celler (Stabenfeldt et al., 1979). Även här har stor morfologisk variation rapporterats. I vissa fall har de antagit formen av fibroblaster medan i andra fall är de mindre utdifferierade med stor oval vesikulär nukleus (Cordes, 1969). I en studie av Bailey et al. (2002) beskrivs de Leydig-liknande cellerna mer som stora polyhedrala celler som sitter tillsammans i kluster. Dessa kunde påvisas hos 3 av de 7 hästar som ingick i den studien. Dessa celler var ofta svårare att se på hästar där testosteronhalten var låg eller normal före operation (Stabenfeldt et al., 1979).

## **Endokrinologi**

Många studier visar att de flesta hästar som inkommer till kliniker med GCT och GTCT har onormala nivåer av hormoner i cirkulationen. Ofta är testosteron- och inhibinhalten förhöjda (Stabenfeldt et al., 1979; Piquette et al., 1990; Bailey et al., 2002; Watson et al., 2002; Hoque et al., 2003; Ellenberger et al., 2007) och halterna av follikelstimulerande hormon (FSH) samt leutiniserande hormon (LH) är ofta under normala nivåer (Hoque et al., 2003). Dock finns rapporter om förhöjda LH nivåer (Bailey et al., 2002). Det verkar även som att tumörerna har en förmåga att koncentrera hormoner som progesteron, östrogen och testosteron då Stickle et al. (1975) funnit högre koncentrationer av dessa hormoner i vätskan som analyserats från tumören än i den preoperativa plasman.

## **Normal GnRH, FSH och LH funktion**

GnRH (Gonadotropin hormon-releasing hormone) stimulerar frisättning av leutiniserande hormon (LH) och follikelstimulerande hormon (FSH). FSH stimulerar tillväxt av folliklarna i äggstockarna medan LH stimulerar de interstitiella cellerna i äggstockarna och inducerar ägglossning och bildningen av gulkroppen. LH stimulerar även produktionen av steroidhormon i äggstockarna (Ojeda, 2004).

De viktigaste steroidhormonen som produceras av äggstockarna är progesteron och östradiol men de utsöndrar även androgener som t.ex. testosteron. Steroidhormon produceras av interstitiella celler och follikulära thecaceller. Huvuddelen av testosteron omvandlas till estradiol med hjälp av aromatas-enzymkomplexet i granulosa celler. Progesteron utsöndras av alla celler i äggstockarna som har förmåga att utsöndra steroida hormoner, oavsett vart de befinner sig. Produktion av steroidhormon står under kontroll av LH och FSH där LH kontrollerar utsöndring av de androgena steroidhormonen, d.v.s. testosteron, och FSH aktiverar aromatasenzymkomplexet som katalyserar omvandlingen av androgener till östrogener. Omvandling sker enbart i granulosa cellerna då dessa celler är de enda som har receptorer för FSH (Ojeda, 2004; Watson & Thomson, 1996).

Både LH och FSH reglerar produktion av inhibin i granulosaaceller. FSH stimulerar frisättning av inhibin från granulosaaceller och LH minskar produktion av inhibin i folliklar som ska ovulera och samtidigt ökar produktionen av inhibin i folliklar som inte är menade för ovulation i denna cykel (Ojeda, 2004).

### **LH- och FSH-koncentrationer vid GCT och GTCT**

Koncentrationen av FSH är ofta lägre hos hästar med GCT och GTCT än hos friska hästar med normal cyklisk aktivitet (Bailey et al., 2002; Hoque et al., 2003). Bailey et al. (2002) visade att koncentrationen av LH var högre hos hästar med GTC än hos kontrollhästarna. Korrelationen var mycket tydlig och desto mer LH som bildades, desto mer testosteron producerades. Enligt forskarna själva är de först med att se förhöjda LH nivåer hos hästar med GCT. Hoque et al. (2003) visade däremot att koncentrationen av FSH var  $0,46 \pm 0,16$  ng/ml och LH var  $0,16 \pm 0,02$  ng/ml vilket är lågt för båda när det jämförs det med kontrollhästar i brunst. Kontrollhästarna hade  $3,3 \pm 0,6$  ng/ml FSH och  $6,81 \pm 2,12$  ng/ml vid brunst. Kontrollhästar i anöstrus hade FSH värden på  $3,6 \pm 0,4$  ng/ml och LH värden på  $1,32 \pm 0,43$  ng/ml. Inga stor förändring av FSH och LH nivåerna noterades efter avlägsning av tumören (Hoque et al., 2003).

### **Förhöjda nivåer av testosteron**

Oftast ses förhöjda testosteronhalter i plasman hos hästar med GCT och GTCT (Stabenfeldt et al., 1979; Hoque et al., 2003). Testosteronhalten minskar redan två timmar efter avlägsning av tumören (Stabenfeldt et al., 1979). En studie har visat att testosteronnivåerna ligger på 264,28 pg/ml hos hästar med GCT vilket är mycket förhöjda värden mot det normala som ligger på cirka 25,19 pg/ml hos hästar i brunst och 46,94 pg/ml hos hästar i anöstrus. Vid avlägsnande av tumören sågs en tydlig minskning av testosteron i cirkulationen till 166,92 pg/ml, och efter 7 dagar var nivåerna ännu lägre (Hoque et al., 2003; Noakes et al., 2009). I en annan studie rapporterades testosteronnivåer runt 104,3 pg/ml (Sedrish et al., 1997).

Det har visats ett tydligt samband mellan höga testosteronkoncentrationer och högt antal Leydig-lik celler ( Stabenfeldt et al., 1979). I en studie återfanns Leydig-lik celler i 18 av 34 hästar varav alla hade förhöjd testosteronkoncentration i cirkulationen och alla visade hingstigt beteende (Ellenberger et al. 2007). Stabenfeldt et al. (1979) fann dessa celler hos 9 av 10 hästar med förhöjd testosteronkoncentration. Ytterligare en rapport (Bailey et al., 2002) visade på dessa Leydig-lik celler och har förslagit ett samband mellan dessa och ökad testosteronkoncentration. En annan rapport såg däremot en korrelation mellan testosteron- och LH-koncentration och att de hästar som har GCT och förhöjda nivåer av testosteron också för det mesta hade en förhöjd LH-koncentration (Bailey et al., 2002). Detta är en av de första rapporter som visar på förhöjda LH koncentrationer då tidigare rapporter visar på låg koncentration. I samma rapport visar blodproven på en tydlig fluktation av testosteronkoncentrationen över en 21 dagars period innan avlägsning av tumören, från ej detekterbara nivåer till över 268 pg/ml. Detta visar på hur viktigt tolkning av resultat är från studier där endast ett blodprov tagits innan avlägsning av tumören (Bailey et al., 2002).

Motsägande är Bailey et al. (2002) i sin studie där de dock visat på att det inte finns någon markant skillnad i testosteronkoncentration mellan hästar med GTC och kontrollhästar med normal cyklisk aktivitet. De såg förhöjda testosteronnivåer hos 13 av 22 hästar med GTC och höga nivåer hos 21 av 31 kontrollhästar. De GTC-påverkade hästarna hade en koncentration på  $304 \pm 107$  pg/ml medan kontrollerna uppmättes till  $146 \pm 32$  pg/ml. Koncentrationerna är fortfarande högre hos hästarna med GTC, men denna studie visar att även friska hästar kan ha förhöjda testosteronkoncentrationer.

### **Förhöjda nivåer av inhibin**

GCT utsöndrar förutom testosteron även inhibin. Piquette et al. (1990) har visat att det är inhibin med en unik form som utsöndras, troligen på grund av att proteinsyntesen i de neoplastiska cellerna skiljer sig från normala celler. Men då inhibin normalt har olika strukturer hos olika djur har det inhibin som produceras av GCT förmodligen förmågan att binda in till de normala receptorerna och ha stor endokrin samt parakrin effekt. Stora tumörer kan då på grund av sin massa, utsöndra stora mängder inhibin. Bailey et al. (2002) visade i sin rapport att data från 7 hästar som ingick i deras studie visade på en positiv korrelation mellan tumörens diameter och inhibinkoncentration. I en rapport mättes serumkoncentration av inhibin till över 10 ng/ml innan avlägsning av tumören. Normalvärde hos ston har angetts som 0.1-0.7 ng/ml (Sedrish et al., 1997) men olika värden anges i olika studier och det är svårt att veta vad som gäller. I en annan rapport påvisades en preoperativ serumnivå av inhibin på 1,82 ng/ml och en postoperativ serumnivå på 0,015 ng/ml (Ellenberger et al., 2007). Watson et al. (2002) uppmätte en inhibinkoncentration på  $3,805 \pm 1,544$  ng/ml hos ston med GTC. De visade även att kontrollhästar i brunst hade inhibinnivåer på 0,238 ng/ml och häster i anöstrus hade så låga nivåer som 0,085 ng/ml.

Inhibin dämpar utsöndringen av FSH från hypofysen vilket leder till en minskad follikelutveckling i äggstockarna. Detta leder förmodligen till att den kontralaterala äggstocken är inaktiv och är en bidragande orsak till infertilitet hos dessa ston (Piquette et al., 1990; Noakes et al., 2009). Bailey et al. (2002) rapporterade förhöjda inhibin nivåer i 95% av hästarna med GTC medan endast 16% av kontrollerna hade förhöjda nivåer av inhibin. Inhibinnivåerna hos de hästar med GTC låg runt 0,4 ng/ml medan kontrollhästarna låg runt 0,05 ng/ml. Även om kontrollhästarna hade detekterbart inhibin i cirkulation så var det mycket lägre än hos hästarna med GTC (Bailey et al., 2002). I en annan rapport sågs förhöjda nivåer av inhibin hos 4 av 6 hästar. Samma hästar hade även förhöjda nivåer av testosteron (Watson et al., 2002). Piquette et al. (1990) har lagt fram förslag att inhibin kan lokalt påverka thecacellernas LH-stimulerade produktion av testosteron, de har dock ej förklarat hur detta skulle ske.

### **Östrogen**

Östrogen ger proliferation av granulosa-celler och främjar verkningsmekanismen av FSH. Ingenting tyder på att tumörerna producerar mer östrogen än vad som är normalt hos friska hästar men Bailey et al. (2002) såg stora fluktationer i östradiol koncentrationer hos 4 av 6 hästar med GTC. Hos kontrollhästarna låg nivåerna runt 0,110 ng/ml medan de 4 hästarna låg mellan 0,141 till 3,6 ng/ml. I en rapport av Stabenfeldt et al. (1979) sågs både ökade och

minskade koncentrationer av östrogen innan operation. I de fall där koncentrationen var högre sjönk värdena efter operation medan de ökade hos de hästar med låg initial koncentration.

Produktionen av östrogener beror mycket på aktiviteten av aromataskomplexet i granulosa celler. Watson & Thomson (1996) visar att aromataskomplexet är nedreglerat i atrofiska folliklar och i äggstocksvävnad med lite aktivitet. Vid infärgning för aromataskomplexet i granulosa cellerna hos de ston med låg östrogenhalt visades ingen aktivitet men i det fall där östrogennivån var förhöjd sågs infärgning för aromataskomplexet. Detta visar ett tydligt samband mellan aromataskomplex-aktivitet och östrogennivåer. Dock visar samma artikel ett udda samband mellan höga testosteronkoncentrationer och infärgning för aromataskomplexet. De konstaterar att hästar med hög testosteronkoncentration visar på viss infärgning för aromataskomplexet medan 2 hästar med låg testosteronkoncentration inte visade någon infärgning för aromataskomplexet (Watson & Thomson, 1996).

### **Progesteron**

Plasmakoncentrationerna av progesteron skilde sig inte markant från nivåer detekterade hos friska hästar under den follikulära fasen av brunstperioden (Stabenfeldt et al., 1979). Progesteron är nästan alltid lågt hos hästar som inte är i brunst då det inte finns någon aktiv lutealvävnad (Stabenfeldt et al., 1979; Bailey et al., 2002) och progesteronkoncentrationen är nästan alltid mindre än 1 ng/ml (Noakes et al., 2009).

### **Beteendestörningar**

Tre typer av beteendestörningar identifierades i en studie av Stabenfeldt et al. (1979). Dessa var aggressivt hingstbeteende i närheten av andra ston, oavbruten eller oregelbundet återkommande brunst och anöstrus beteende. Det endokrina underlag för hanligt beteende hos ston med äggstockstumörer verkar relatera till elevering av testosteronkoncentrationer över 100 pg/ml plasma (Stabenfeldt et al., 1979; Bailey et al., 2002). Dock har även aggressivt beteende visats hos hästar som har testosteronkoncentrationen under 100 pg/ml (Bailey et al., 2002). Normala nivåer av testosteron ligger på ca 45 pg/ml. I en studie (Bailey et al., 2002) sågs dock att av 10 hästar med aggressivt beteende hade bara 4 av dessa testosteronnivåer över 100 pg/ml. Men då utsöndringen av testosteron visade sig i samma studie vara episodisk är det möjligt att även de övriga 6 hästarna uppnådde koncentrationer över 100 pg/ml vissa tider på dygnet. Ellenberger et al. (2007) har förslagit att serum nivåer av testosteron över 0.04 ng/ml associeras med hingstigt beteende. Detta är underligt då det ligger inom normalreferensen för ston.

### **Diagnos**

Diagnos sker ofta via rektal palpation då GCT och GTCT brukar växa med tiden. En viktig hjälp i diagnosen är palpation av den andra äggstocken. Om denna är liten och hård kan det tyda på GCT i den förstörda äggstocken (Meagher et al., 1977). Ett sätt att komplettera och bekräfta diagnosen av GCT och GTCT är att genom blodprov se om förhöjda testosteron och inhibinnivåer förekommer (Hinrichs & Hunt 1990; Watson et al., 2002; Bailey et al., 2002).

## Differentialdiagnos

Det finns andra tillstånd än äggstockstumörer där äggstocken kan bli förstörd hos häst men i dessa fall innebär det inte någon fara för hästen. Dessa kan vara t.ex. hematom och kan minska i storlek av sig själv medan en GCT eller GTCT inte kommer att krympa i storlek. Ett sto med hematom bör inte visa några beteendeförändringar och inga störningar i brunstcykeln (Meagher et al., 1977).

## Återhämtning

Behandling av GCT och GTCT sker genom kirurgiskt ingrepp och avlägsning av den tumörpåverkade äggstocken. Hormonell behandling har försökts i olika studier men de har funnit att kirurgi är det enda sättet att behandla tumören. Två hästar med hingstigt beteende provbehandlades med luteotrofiskt hormon utan någon effekt (Bosu et al., 1982).

Ofta efter kirurgisk avlägsning av GCT och GTCT återgår hästarnas temperament och brunstcykel till normalt. Dock kan tiden det tar att återgå till normal östruscykel ta allt mellan 2-16 månader, eventuellt mer (Meagher et al., 1977). De flesta hästar återgår till normalt beteende inom ett par dagar efter operationen. Östrus sågs hos ett sto nio dagar efter operationen medan hos vissa tog det mycket längre tid (Bosu et al., 1982).

## DISKUSSION

Hormonnivåerna ska regleras på ett sådant vis att brunstcykel sker normalt men i de flesta fall kommer hästarna in till kliniker på grund av reproduktionsstörningar. Förslag har lagts fram om varför LH stiger hos hästar med GTC. Progesteron ska normalt hålla LH-koncentrationerna låga, men då progesteronkoncentrationen är låg på grund av negativ feedback stiger LH-koncentrationerna. LH stimulerar normalt testosteronproduktion i thecacellerna och Bailey et al. (2002) visade denna korrelation mycket tydligt. Det som förvirrar är att andra studier inte visar ett lika tydligt samband. Ofta var LH-koncentrationen låg vilket borde ge mindre stimulering av thecacellerna att producera testosteron. Men istället sågs höga testosteronkoncentrationer. Piquette et al. (1990) har lagt fram förslag om att inhibin lokalt påverkar testosteronproduktion i thecacellerna och att det kan förklara varför stora mängder testosteron kan produceras i frånvaro av LH-stimuli.

Höga testosteronnivåer ger en negativ feedback på LH och även FSH. Men då borde även testosteronnivåerna sjunka med minskade LH nivåer. Detta sker förmodligen hos övervägande antal hästar då LH är lågt och testosteronkoncentration hög. Men, då borde även testosteron sjunka till normala nivåer på grund av negativ feedback. Möjligen utvecklar de neoplastiska thecacellerna en förmåga att frikoppla testosteronproduktion från LH-stimulering och producerar testosteron i frånvaro av LH. Dock är studien av Bailey et al. (2002) bevis på att de neoplastiska cellerna fortfarande svarar på LH-stimuli.

Testosteron skall sedan gå in i granulosa-cellerna och omvandlas till östradiol med hjälp av aromatas-enzymkomplexet. Detta enzymkomplex aktiveras normalt av FSH, men då FSH-

nivåerna är låga kan inte aktivering ske i lika stor grad. Rapporterna visar att FSH sjunker under normal nivå på grund av en negativ feedback från inhibin och testosteron. Detta kan ge en förklaring till varför östrogenkoncentrationerna hos den större andelen hästar inte stiger med stigande testosteronproduktion.

De låga FSH-nivåerna borde även påverka inhibinproduktion då utsöndring av inhibin normalt stimuleras av FSH. Inhibin ska sedan via negativ feedback blockera utsöndring av GnRH vilket resulterar i minskad produktion av LH eller FSH. Vad som orsakar ökningen av inhibinutsöndring är oklart då FSH nivåerna är låga hos hästar med GCT. Vid låga FSH nivåer hos friska hästar borde då också inhibin vara lågt. Möjligtvis utvecklar de neoplastiska cellerna förmågan att även utsöndra inhibin frikopplat från FSH-stimulering. Detta kan förklara varför det inhibin som utsöndras har lite annorlunda struktur än normalt inhibin.

Testosteron, till skillnad från inhibin, kan gå in och selektivt blockera FSH-utsöndringen från hypofysen direkt. Aktiveringen av aromataskomplexet blir då indirekt blockerat på grund av två olika hormoner, inhibin och testosteron. I artikel av Watson & Thomson (1996) studerades aromataskomplexet hos hästar med bland annat äggstockstumörer. Resultaten visade lite annorlunda resultat med hänsyn till testosteronkoncentration. De visade att de hästar med lite infärgning för aktivt aromataskomplexet hade höga testosteronkoncentrationer och de hästar som saknade infärgning för komplexet hade låga halter testosteron. Det borde vara omvänt då man vill ha inaktivt aromataskomplex för att testosteron ska förhindras att omvandlas till östrogen. Dock bör det tas i beräkning att denna studie tittade på östrogenhalten istället för testosteronhalten som utgångspunkt. De konstaterade med hänsyn till östrogen att de hästar med aktivt aromatas hade högre koncentration östrogen i cirkulationen än de hästar utan aktivt aromatas. Men fortfarande står frågetecknen kvar om varför då inte resultaten speglar sig i testosteronkoncentrationen.

En annan effekt av att vi inte har något FSH förutom den minskade testosteronomvandlingen är att vi inte får någon stimulering av folliklarna i äggstockarna. Den äggstocken som inte är tumörpåverkad blir då atrofisk. Detta sågs hos alla hästar. Efter avlägsning av tumören återgår ofta brunstcykeln till normalt, men studier visar att tiden det tar för hästarna att komma i brunst efter operationen varierar mycket. Möjligtvis beror detta på vilken tid på året som hästarna kommer in till kliniken för operation. Normalt ligger brunstperioden för hästar på våren. Men detta är mycket individuellt och hästar kan även visa brunst på hösten. Men om en häst då opereras för tumören i slutet av sommaren tar det möjligtvis längre tid för denna häst att återgå till brunst är en häst som opereras i november.

Det krävs mer forskning för att förstå hur dessa hormoner påverkar varandra när koncentrationerna överstiger det normala. Det krävs även forskning om varför tumörerna producerar sitt hormon och vad för stimuli de svarar på. För att förstå hur testosteronkoncentrationerna kan vara så höga utan LH stimuli krävs forskning på de neoplastiska cellerna för att avgöra om de har möjlighet att producera testosteron fritt från LH stimuli. Det dyker även upp frågetecknen när information lagts fram att friska hästar också har höga mätbara koncentrationer testosteron i cirkulationen. Allt mer så då dessa koncentrationer

var över 100 pg/ml som vissa studier har satt som ett gränsvärde för aggressivitet hos hästarna med GTC.

Ett område där det finns minst information är varför inhibinkoncentrationerna stiger som de gör. Studierna har fokuserat mer på att tumörerna producerar inhibin istället för att se hur och varför tumörerna producerar inhibin. Även här krävs mer forskning för att se vilka stimuli tumörcellerna svarar på för att producera den annorlunda formen av inhibin. Då förhöjda inhibinkoncentrationer är en bra indikator och hjälp i diagnostik av GTC och GTCT bör det vara ett fokus för forskarsamhället.

Av vikt är även att notera att de flesta hästarna som medverkat i dessa studier har provtagits en gång. Koncentrationen av de olika hormonerna har sedan mätts i detta enda blodprov. I de få studier där de tar flera blodprov över tiden ser man att koncentrationerna av hormonerna fluktuerar kraftigt. Nästa gång en studie designas för att mäta koncentrationer av hormon hos hästar med GTC och GTCT bör flera blodprovstagningsstillfällen planeras in för att korrekt kunna mäta hormonvärden.



## LITTERATURFÖRTECKNING

- Bailey, M. T., Troedsson, M. H. T., Wheaton, J. E. (2002) Inhibin concentrations in mares with granulosa cell tumors. *Theriogenology*, 57, 1885-1895
- Bacha, W. J., Bacha, L. M. (2006). *Color Atlas of Veterinary Histology*. 2. Uppl. Iowa. Blackwell Publishing. Kap. 18.
- Bosu, W. T. K., Van Camp, S. C., Miller, R. B., Owen, R. R. (1982) Ovarian disorders: Clinical and morphological observations in 30 mares. *Canadian Veterinary Journal*, 23, 6-14
- Cordes, D. O. (1969) Equine granulosa tumours. *The Veterinary Record*, 85, 186-188
- Ellenberger, C., Bartmann, C. P., Hoppen, H., Kratzsch, J., Aupperle, H., Klug, E., Schoon, D., Schoon, H. (2007) Histomorphological and immunohistochemical characterization of equine granulosa cell tumors. *Journal of Comparative pathology*, 136(2-3), 167-176
- Gift, L. J., Gaughan, E. M., Schoning, P. (1992) Metastatic granulosa cell tumor in a mare. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 200(10), 1525-1526
- Hoque, S., Senba, H., Tsunoda, N., Derar, R. I., Watanabe, G., Taya, K., Osawa, T., Miyake, Y. (2003) Endocrinological changes before and after removal of the granulosa theca cell tumor (GTCT) affected ovary in 6 mares. *Journal of Veterinary Medical Science*, 65(8), 887-891
- 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
- MacLachlan, N. J. (1987) Ovarian disorders in domestic animals. *Environmental Health Perspectives*, 73, 27-33
- Meagher, D. M., Wheat, J. D., Hughes, J. P., Stabenfeldt, G. H., Harris, B. A. (1977) Granulosa cell tumors in mares – a review of 78 cases. *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners convention*, 23, 133-143
- Noakes, D. E., Parkinson, T. J., England, G. C. W. (2009). *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 9. uppl. London. Elsevier Health Sciences
- 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  $\beta$ A-subunit messenger ribonucleic acids and proteins. *Biology of Reproduction*, 43(6), 1050-1057
- Sedrish, S. A., McClure, J. R., Pinto, C., Oliver, J., Burba, D. J. (1997) Ovarian torsion associated with granulosa-theca cell tumor in a mare. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211(9), 1152-1154
- 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
- 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), 150-152
- 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. *Journal of Reproduction and Fertility*, 108, 239-244
- Watson, E. D., Heald, M., Leask, R., Groome, N. P., Riley, S. C. (2002) Detection of high circulation concentrations of inhibin pro- and  $\alpha$ C immunoreactivity in mares with granulosa-theca cell tumours. *Equine Veterinary Journal*, 34(2), 203-206

Ojeda, S. R. (2004). The Anterior Pituitary and Hypothalamus & Female Reproductive Function. I: J. E. Griffin & S. R. Ojeda, eds. *Textbook of Endocrine Physiology*. New York. Oxford University Press. Kap. 6 & 9