

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

Influencia del tumor de la granulosa (TCG) sobre los valores hormonales normales de progesterona, testosterona libre y total, estradiol, inhibina β y antimulleriana en yeguas: Reporte de caso en Ecuador

Martina Ivanny Mancheno Valarezo

Medicina Veterinaria

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Médico Veterinario

Quito, 16 de diciembre de 2021

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

Influencia del tumor de la granulosa (TCG) sobre los valores hormonales normales de progesterona, testosterona libre y total, estradiol, inhibina β y antimulleriana en yeguas: Reporte de caso en Ecuador

Martina Ivanny Mancheno Valarezo

Nombre del profesor, Título académico

Rommel Lenin Vinuesa, DMVZ, M.Sc

Quito, 16 de diciembre de 2021

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Martina Ivanny Mancheno Valarezo

Código: 00200596

Cédula de identidad: 1726827874

Lugar y fecha: Quito, 16 de diciembre de 2021

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

El Tumor de las Células de la Granulosa (TCG) es una de las patologías ováricas más comunes en yeguas, es causado por un cambio de celularidad en las células de la granulosa cuya función es la producción de estrógenos a partir de la aromatización de andrógenos. Esta patología causa la obliteración de la fosa ovulatoria por el crecimiento exacerbado de la neoplasia, además se caracteriza por afectar el ovario contralateral causando su inactivación y atrofia. Existen diversos métodos diagnósticos para el TCG, algunos de ellos son el comportamiento de semental caracterizado por el aumento de la testosterona, ultrasonografía en donde se observa un ovario con múltiples quistes que presenta un patrón conocido como “panal de abejas”, pero el examen de laboratorio más certero para llegar al diagnóstico definitivo es el análisis de las hormonas reproductivas. En este trabajo se analiza progesterona, testosterona, estradiol, inhibina β , antimulleriana en tres días distintos, al día 0 (día de la cirugía), día 7 y día 43 después de la cirugía para saber cuál es la influencia del TCG en la reproducción equina. El análisis hormonal demuestra que la testosterona total (d0: 0,30 ng/ml; d7: 0,13 ng/ml, d43: 0,15 ng/ml) y libre (d0: 0,50 pg/ml; d7: 0,50 pg/ml, d43: 0,54 pg/ml) se encuentran disminuidas, la progesterona disminuida (d0: 0,62 ng/ml; d7: 0,79 ng/ml, d43: 1,39 ng/ml), el estradiol dentro del rango (d0: 33,49 pg/ml; d7: 31,03 pg/ml, d43: 31,10 pg/ml), inhibina β (d0: 0.02 ng/ml; d7: 0.02 ng/ml, d43: 0.01 ng/ml) disminuida y antimulleriana (d0: 0.03 ng/ml; d7: 0.09 ng/ml, d43: 0.04 ng / ml) disminuida. Se debe considerar que el tiempo en que tarda en ciclar una yegua después la cirugía puede oscilar entre 8 a 12 meses. Finalmente, se afirma que el tumor de la granulosa sí influye en los niveles de las hormonas reproductivas.

Palabras clave: *granulosa, tumor, neoplasia, tumor células de la granulosa, tumor ovárico, yegua(s), progesterona, testosterona, inhibina β y estrógeno(s).*

ABSTRACT

Granulosa cell tumor (GCT) is one of the most common ovarian pathologies in mares; it is caused by a change in cellularity in granulosa cells whose function is the production of estrogens from the aromatization of androgens. This pathology causes obliteration of the ovulatory fossa due to the exacerbated growth of the neoplasm; it is also characterized by affecting the contralateral ovary causing its inactivation and atrophy. There are various diagnostic methods for GCT; some of them are stallion behavior characterized by increased testosterone, ultrasonography where an ovary with multiple cysts is observed that presents a pattern known as "honeycomb", but the most accurate laboratory test to reach a definitive diagnosis is the analysis of reproductive hormones. In this work, progesterone, testosterone, estradiol, inhibin β , antimüllerian are analyzed on three different days, on day 0 (day of surgery), day 7 and day 43 after surgery to find out what is the influence of GCT on equine reproduction. Hormonal analysis shows that total testosterone (d0: 0.30 ng/ml; d7: 0.13 ng/ml, d43: 0.15 ng/ml) and free testosterone (d0: 0.50 pg/ml; d7: 0.50 pg/ml, d43: 0.54 pg/ml) are decreased, progesterone is decreased (d0: 0.62 ng/ml; d7: 0.79 ng/ml, d43: 1.39 ng/ml), estradiol within the range (d0: 33.49 pg / ml; d7: 31.03 pg / ml, d43: 31.10 pg / ml), inhibin β (d0: 0.02 ng/ml; d7: 0.02 ng/ml, d43: 0.01 ng/ml) is decreased and antimüllerian (d0: 0.03 ng/ml; d7: 0.09 ng/ml, d43: 0.04 ng / ml) is decreased. It should be considered that the time it takes for a mare to cycle after surgery can range from 8 to 12 months. Finally, it is stated that the granulosa tumor does influence the levels of reproductive hormones.

Key words: *granulosa, tumor, neoplasia, granulosa tumor cells, ovarian tumor, mare(s), progesterone, testosterone, inhibin β , and estrogen(s).*

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|-----------|
| INTRODUCCIÓN | 9 |
| MATERIALES Y MÉTODOS..... | 12 |
| Metodología de la obtención de la muestra. | 13 |
| Manejo y procesamiento de muestras. | 13 |
| Metodología de análisis para Testosterona Total, Progesterona y Estradiol..... | 14 |
| Metodología de análisis de hormonas Testosterona Libre y Antimulleriana. | 14 |
| Metodología de análisis de hormona inhibina β..... | 14 |
| RESULTADOS..... | 15 |
| DISCUSIÓN | 17 |
| RECOMENDACIÓN | 21 |
| CONCLUSIONES | 22 |
| REFERENCIAS BILIOGRÁFICAS | 23 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Tabla de valores hormonales en yeguas no gestantes | 15 |
| Tabla 2. Valores hormonales en yeguas no gestantes con TCG..... | 15 |
| Tabla 3. Tabla de valores hormonales en yegua no gestante con TCG - Caso Clínico Ecuador | 16 |

INTRODUCCIÓN

El tumor de la granulosa (TCG) es una de las patologías ováricas más comunes en yeguas representan un 2.5% de todas las neoplasias del sistema reproductivo reportadas en equinos (B. A. Ball et al., 2013). Histológicamente, son neoplasias del cordón sexual que se encuentra formadas principalmente por células de la granulosa, estas células forman parte del folículo de Graaf, cuya función es producir estrógenos mediante la aromatización de andrógenos (Prestes et al., 2013), pero en algunos casos las células de la teca también se ven afectadas, es común que la fosa ovulatoria se encuentra obliterada. No existe predilección por raza o edad del animal ya que se han diagnosticado TCG en yeguas sexualmente maduras, yeguas gestantes, yeguas post parto y en potras prepúberes (Vanderwall et al., 2014).

Aunque hay excepciones, la mayoría de estas neoplasias son benignas unilaterales asociadas al cese de la actividad reproductiva cíclica que se caracteriza por la presencia y funcionamiento de un ovario contralateral pequeño e inactivo. Las yeguas que tienen esta patología generalmente exhiben tres patrones de comportamiento específicos: anestro, ciclicidad persistente, o ninfomanía al que se define como comportamiento similar al de un semental, aunque todo depende de las células tumorales que se encuentren involucradas dentro de la neoplasia y la producción de hormonas (Umer et al., 2019).

En cuanto al diagnóstico de la patología, el TCG es la única anomalía ovárica caracterizada por un ovario aumentado de tamaño acompañado de un ovario contralateral atrofiado e inactivo, lo que lo hace un signo clave para el diagnóstico de esta patología. De igual forma, en el examen de ultrasonografía la apariencia del ovario que contiene la neoplasia tiende a ser multiquística o masas quísticas solitarias lo que se domina como “patrón de panal de abeja”, sin embargo, para el diagnóstico confirmatorio se requieren pruebas endocrinológicas de antimulleriana, inhibina β , testosterona, progesterona y estradiol (HYATT

et al., 2015). El aumento de las concentraciones séricas de inhibina β y/o testosterona combinadas con bajas concentraciones de progesterona en yeguas no gestantes se han utilizado para el diagnóstico de yeguas con TCG (Crabtree, 2011). La literatura establece que la progesterona no se encuentra elevada con la presencia del TCG debido a la ausencia de cuerpos lúteos y un ciclo reproductivo normal (Conley et al., 2018). Por otro lado, los niveles de inhibina β y testosterona se encuentran aumentados en un 90% y 60% respectivamente (Greci et al., 2009), este aumento es más común en yeguas que demuestran un comportamiento de semental (B. A. Ball et al., 2013). Finalmente, el estradiol y la hormona antimulleriana tienden a estar disminuidos debido a la ubicación del tumor en el tejido que secreta estas hormonas (Bailey et al., 2002). La resolución quirúrgica para el TCG es laparoscopia en donde el ovario afectado se extrae por completo, mientras que el ovario inactivo se queda dentro de la cavidad abdominal, las yeguas pueden tardare en ciclar entre 8 a 12 meses (Hoque et al., 2003).

Los resultados de este caso clínico reportado en Puembo, Pichincha, Ecuador buscan ser comparados con los datos publicados en la literatura para determinar un diagnóstico confirmatorio, ya que además de los análisis hormonales también se observó un comportamiento de semental, hallazgos a nivel ecográfico, aumento de tamaño ovárico a la palpación, exéresis del tumor y la posterior confirmación de la presencia de un TCG mediante citología. Al manejar genéticas puras a nivel de criaderos esta condición no solo afecta a la reproducción del paciente, si no también tiene un alto impacto debido al valor económico que estas yeguas representan para sus propietarios (Boglárka et al., 2017).

En este trabajo se describe el caso clínico de una yegua de raza español de nombre Especial de aproximadamente 7,5 años, quién es remitida al médico veterinario especialista en reproducción equina por problemas reproductivos. Además, se realizan cuadros comparativos de las hormonas reproductivas progesterona, estradiol, testosterona, antimulleriana e inhibina β , tanto pre, intra y post tratamiento para proveer más información de lo que sucede a nivel de

los criaderos equinos ecuatorianos en comparación con lo reportado en la literatura. En otra instancia, la genética que se maneja a nivel de criaderos representa un valor económico para sus propietarios, por lo que esta información es relevante tanto para uso veterinario en el área de reproducción equina como para los criadores de yeguas con el fin de evitar importantes pérdidas económicas a futuro.

Para demostrar la influencia del TCG en las hormonas reproductivas se plantea la siguiente pregunta de investigación ¿De qué forma influye la presencia de un TCG en los niveles hormonales normales de: progesterona, estradiol, testosterona, antimulleriana e inhibina β ? Este trabajo tuvo como objetivo principal establecer la influencia del tumor de la granulosa sobre los valores hormonales normales de progesterona, estradiol, testosterona, antimulleriana e inhibina β en yeguas en Ecuador. Los valores hormonales que se obtienen demuestran que el TCG sí tiene influencia sobre la reproducción equina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Búsqueda de información

Se realizó una recopilación de información científica usando motores de búsqueda como *Medline, Google Scholar, PubMed, Science Direct* y trabajos de pregrado en repositorios de universidades nacionales e internacionales publicados en la web. Se utilizó el idioma inglés y español para obtener la mayor cantidad de información posible, aplicando palabras clave como: *granulosa, tumor, granulosa tumor cell(s), ovary tumor, mare, progesterone, testosterone, inhibin β , estrogen(s), anti-müllerian hormone, diagnosis, normal values of, horse(s), Ecuador y equine.*

Operadores lógicos

Durante la búsqueda se utilizó operadores lógicos como Y/AND que sirvieron para ampliar y focalizar la información; O/OR fueron utilizados para extender la búsqueda y NO/NOT para eliminar la información no requerida como *granulosa tumor AND mare AND anti-müllerian hormone NOT humans, inhibin β OR estrogens.*

Asistente inteligente y organizador bibliográfico

Se utilizó el programa *Mendeley*® como una biblioteca virtual y asistente de búsqueda para llevar a cabo la organización, clasificación, lectura y extracción de los datos requeridos para la elaboración del presente trabajo de investigación. Además, se lo utilizó de manera simultánea con el programa *Microsoft Word*® para la elaboración de citas y referencias bibliográficas.

Descripción del caso clínico

La información del caso clínico fue recopilada a través de una entrevista al médico veterinario especialista responsable y se tomaron tres muestras de sangre de la vena yugular a la yegua (Especial): 0 días (día de la cirugía), 7 días después y a los 43 días del tratamiento.

Tabulación de resultados

Se utilizó el programa Microsoft Excel® para tabular los datos encontrados en la literatura y los resultados de laboratorio del caso clínico reportado en el presente trabajo para poder comprarlos y cotejarlos en la discusión.

Análisis hormonal de Testosterona Total, Testosterona Libre, Progesterona, Estradiol, Inhibina β , Antimulleriana

Metodología de la obtención de la muestra.

Se realizó venopunción de la yugular para la extracción de muestra sanguínea mediante el uso de vacutainer al día 0, 7 y 43 después del tratamiento, bajo la supervisión de un médico veterinario. Para dicho procedimiento se esterilizó la zona de punción con algodón bañado en alcohol al 70%, se introdujo la aguja dentro del vaso sanguíneo con el bisel hacia arriba en un ángulo de 45° y se extrajo la muestra utilizando un tubo tapa roja (sin anticoagulante) y tubo tapa lila (EDTA) sellados al vacío. Se realizó nuevamente la desinfección de zona de punción con algodón y alcohol al 70%.

Manejo y procesamiento de muestras.

Una parte de las muestras fueron enviadas a un laboratorio clínico veterinario con el fin de analizar los niveles hormonales de: progesterona, testosterona, y estrógenos. Las demás muestras fueron enviadas a un laboratorio de diagnóstico en humanos para el análisis de

hormonas antimulleriana e inhibina β debido a que los reactivos específicos para la especie no se encuentran disponibles en el Ecuador.

Las muestras fueron transportadas en cooler con dos placas de hielo, la temperatura dentro del medio fue de 4° aproximadamente, se evitó el contacto directo entre la muestra, el frío y la luz solar para disminuir las probabilidades de hemólisis. En el laboratorio, las muestras fueron centrifugadas a 2500 rpm (revoluciones por minuto) durante 5 minutos para la obtención de suero y plasma, se congelaron a 4 grados centígrados hasta su análisis correspondiente. Los requerimientos para el análisis fueron mínimo 5 ml de suero, sin lipemia o hemólisis.

Metodología de análisis para Testosterona Total, Progesterona y Estradiol.

La técnica utilizada fue electro quimioluminiscencia, este es un método directo, rápido y sencillo que se basa en los principios de inmunoensayo competitivo y la formación de enlaces y puentes entre moléculas. Es usado para medir antígenos o anticuerpos específicos basados en el cambio de electro quimioluminiscencia antes y después de la inmunoreacción generada (Wu & Ju, 2012).

Metodología de análisis de hormonas Testosterona Libre y Antimulleriana.

El procedimiento utilizado para el análisis de testosterona libre y antimulleriana fue quimioluminiscencia. Este es un método de detección que se usa para calcular la concentración del analito (hormona) mediante la emisión de luz producida como resultado de las reacciones químicas que causan pérdida de energía en forma de fotones (Wu & Ju, 2012).

Metodología de análisis de hormona inhibina β .

Se realizó a través de inmunoensayo enzimático (EIA). Este método se basa en la formación de complejos antígeno-anticuerpo para generar un resultado cuantificable y medible mediante una reacción colorímetro enzimático (Bhardwaj & Kulshrestha, 2020).

RESULTADOS

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en el estudio de un caso clínico de una yegua con Tumor de la Granulosa en el ovario izquierdo:

Tabla 1. Tabla de valores hormonales en yeguas no gestantes

| TABLA DE VALORES HORMONALES NORMALES EN YEGUAS NO GESTANTES | | | | | | | |
|---|----------------------------|----------------------------|--------------------|----------------------|------------------|------------------------|--|
| Criterio | Testosterona total (ng/mL) | Testosterona libre (pg/mL) | Estrógenos (pg/mL) | Progesterona (ng/mL) | Inhibina (ng/mL) | Antimulleriana (ng/mL) | Referencias |
| Valores hormonales | < 4,76 | 20 a 50 | 20 a 45 | < 1 | 0,1 a 0,7 | ≤ 4,2 | (B. A. Ball et al., 2013; Barry A. Ball et al., 2014; Gee et al., 2012; HYATT et al., 2015; McCue, et al., 1991; McCue et al., 2006; Tsogtgerel et al., 2021; Vanderwall et al., 2014) |

En la tabla 1 se describen los valores hormonales normales recopilados en la revisión bibliográfica realizada para el presente trabajo; estos fueron extraídos de la literatura entre los años 2002 a 2021 (19 años), en base a la metodología explicada previamente.

Tabla 2. Valores hormonales en yeguas no gestantes con TCG

| TABLA DE VALORES HORMONALES EN YEGUAS NO GESTANTES CON TUMOR DE CÉLULAS DE LA GRANULOSA | | | | | | | |
|---|----------------------------|----------------------------|--------------------|----------------------|------------------|------------------------|--|
| VALORES HORMONALES ANTES DEL TRATAMIENTO EN LA LITERATURA | | | | | | | |
| Toma de muestra | Testosterona total (ng/mL) | Testosterona libre (pg/mL) | Estrógenos (pg/mL) | Progesterona (ng/mL) | Inhibina (ng/mL) | Antimulleriana (ng/mL) | Referencias |
| 0 días | > 4,76 | 53,3 a 144,3 | 34,4 a 66,5 | 0,2 a 4,5 | 0,78 a 13,8 | 4,21 a 113 | (B. A. Ball et al., 2013; Barry A. Ball et al., 2014; Gee et al., 2012; HYATT et al., 2015; McCue, et al., 1991; McCue et al., 2006; Tsogtgerel et al., 2021; Vanderwall et al., 2014) |
| VALORES HORMONALES DESPUÉS DEL TRATAMIENTO EN LA LITERATURA | | | | | | | |
| 2 a 210 días | N/A | < 115 | N/A | N/A | 0,22 | N/A | (B. A. Ball et al., 2013; Barry A. Ball et al., 2014; Gee et al., 2012; HYATT et al., 2015; McCue, et al., 1991; McCue et al., 2006; Tsogtgerel et al., 2021; Vanderwall et al., 2014) |

En la tabla 2 se expresan los valores hormonales antes y después del tratamiento en yeguas con tumor de la granulosa recopilados en la literatura en los últimos 19 años. Se utilizó un rango de días para la toma de la muestra ya que los análisis respectivos se hicieron en diferente momento. Los valores reportados como N/A hacen referencia a valores hormonales no encontrados dentro de la literatura.

Tabla 3. Tabla de valores hormonales en yegua no gestante con TCG - Caso Clínico Ecuador

| TABLA DE VALORES HORMONALES EN YEGUA NO GESTANTE CON TUMOR DE CÉLULAS DE LA GRANULOSA - CASO CLÍNICO ECUADOR | | | | | | | |
|--|----------------------------|----------------------------|--------------------|----------------------|--------------------|------------------------|--------------|
| VALORES HORMONALES ANTES DEL TRATAMIENTO CASO CLÍNICO - ECUADOR | | | | | | | |
| Toma de muestra | Testosterona total (ng/mL) | Testosterona libre (pg/mL) | Estrógenos (pg/mL) | Progesterona (ng/mL) | Inhibina B (ng/mL) | Antimulleriana (ng/mL) | Referencias |
| Día 0 | 0,30 | 0,50 | 33,49 | 0,62 | 0,02 | 0,03 | Caso clínico |
| VALORES HORMONALES DESPUÉS DEL TRATAMIENTO CASO CLÍNICO - ECUADOR | | | | | | | |
| Día 7 | 0,13 | 0,50 | 31,03 | 0,79 | 0,02 | 0,09 | Caso clínico |
| Día 43 | 0,15 | 0,54 | 31,10 | 1,39 | 0,01 | 0,04 | Caso clínico |

Por su parte, en el caso clínico encontrado en Ecuador (tabla 3) se registran los valores hormonales obtenidos correspondiente a las muestras tomadas en los días 0, 7 y 43 después del tratamiento. Se envió un duplicado de muestras del día 0 y 7 al laboratorio humano para comprobar el análisis de testosterona total en donde se obtuvo 0,02 ng/mL mientras que la testosterona libre no fue detectada.

DISCUSIÓN

El tumor de la granulosa (TCG) es una de las patologías ováricas más comunes en yeguas, sin embargo, normalmente no son reportadas. El presente trabajo busca describir el caso clínico de una yegua con tumor de la granulosa en Ecuador, además de realizar cuadros comparativos de hormonas reproductivas como progesterona, estradiol, testosterona, antimulleriana e inhibina β para proveer información de lo que sucede en los criaderos equinos ecuatorianos en comparación con lo reportado en la literatura. El objetivo del presente estudio es establecer la influencia del tumor de la granulosa sobre los valores normales de las hormonas reproductivas mencionadas anteriormente. Para esto, se planteó la siguiente pregunta ¿De qué forma influye la presencia de un TCG en los niveles hormonales normales de: progesterona, estradiol, testosterona, antimulleriana e inhibina β ? Para responder a la pregunta, se realizaron análisis séricos de las hormonas reproductivas mencionadas anteriormente, los datos obtenidos en el presente caso clínico se exponen en la Tabla 3.

La progesterona es analizada en estos casos clínicos pero su resultado normalmente es < 1 ng/mL lo que concuerda con lo observado en este trabajo ya que esta hormona se encuentra disminuida debido a la falta de tejido lútea por la ausencia del ciclo estral por la acción del TCG (Prestes et al., 2013). En la literatura se reporta que los niveles de progesterona pueden estar elevados siendo superiores a 2,5 ng/ml cuando la yegua que presenta esta patología se encuentra gestante, cabe recalcar que el TCG puede estar presente en yeguas prepúberes, gestantes o recién paridas (Crabtree, 2011).

Para el diagnóstico del TCG en la yegua de este caso clínico, a parte de los problemas reproductivos reportados, el aumento de tamaño del ovario izquierdo, hipotrofia e inactivación del ovario contralateral y el patrón en forma de panal de abeja característico de esta patología

en ultrasonografía, también se tomó en consideración el comportamiento ninfómana observado (comportamiento de semental).

Para explicar este comportamiento, se analizaron valores de testosterona total y testosterona libre presentados en la Tabla No. 3 pero los resultados obtenidos antes de la cirugía (día 0) fueron menores a los esperados, por lo que un segundo análisis de las muestras tomadas el día 0 y día 7 post cirugía fue realizado en un laboratorio diferente y los resultados obtenidos para testosterona total fue 0,02 ng/mL, mientras que para la testosterona libre no fue detectada en ambas muestras.

La literatura establece que, para la presencia de dicho comportamiento de semental, los valores de testosterona total deben ser $> 4,76$ ng/mL, mientras que para testosterona libre debe estar entre 53,3 a 144,3 pg/ml como se indica en la Tabla 3, sin embargo, en el 2011 se llevó a cabo una investigación en donde a siete yeguas con TCG se les realizó análisis de testosterona, dos de ellas presentaban comportamiento ninfómana con concentraciones de testosterona total de 0,52 ng/mL (Crabtree, 2011).

Los valores obtenidos de testosterona en este caso clínico demuestran ser inferiores a los que se exponen en la literatura. Sin embargo, existen varios elementos que pueden alterar los resultados como la colecta y manejo de la muestra, la mantención de la cadena de frío y el reactivo utilizado (Barry A. Ball et al., 2014). En esta investigación se utilizaron reactivos para mamíferos, por lo que se recomienda utilizar materiales propios de la especie para obtener valores más precisos y certeros (Mair & Hutchinson, 2007).

Otro factor a considerarse fue que, la técnica de laboratorio utilizada en el presente caso clínico para el análisis de testosterona total fue electroquimioluminiscencia mientras que para la testosterona libre fue quimioluminiscencia, sin embargo, la mayoría de casos clínicos utilizan la técnica radioinmunoensayo por su mayor especificidad y menor sensibilidad (Wu & Ju, 2012).

La sensibilidad de una prueba hace referencia a la posibilidad del test para detectar los niveles hormonales presentes en la muestra (Gugoasa & Staden, 2017), por lo que este parámetro podría estar disminuido durante el análisis, ya que como se mencionó, los reactivos no son propios de la especie por lo que posiblemente la detección de la muestra no fue certera.

El estradiol no es una hormona utilizada para el diagnóstico de la patología, sin embargo, es interesante analizarla con fines educativos para saber cómo evoluciona la reactivación del ciclo estral de la yegua, ya que este es el principal interés en el área de la reproducción equina. Los valores obtenidos de estradiol en esta investigación están descritos en la Tabla 3, la hormona indica un patrón característico de la patología y esto se debe a que hay una disminución de la enzima aromatasa que se encarga de la conversión de testosterona a estrógenos, razón por la cual no es una hormona diagnóstica de esta patología (Müller et al., 2012).

Por otro lado, la hormona diagnóstica para esta patología es específicamente la inhibina β , la inhibina α no es analizada en TCG ya que puede presentar falsos positivos o falsos negativos porque puede ser secretada por otros órganos como las glándulas adrenales (Kurihara et al., 2004). En estos casos se espera que la inhibina β se encuentra elevada ya que está es la principal hormona gonadal que influye en la función reproductiva ya que genera retroalimentación a nivel de la pituitaria donde se realiza la regulación de la hormona folículo estimulante (FSH) y además, sirve como marcador de la función ovárica (McCue et al., 2006). Los valores obtenidos en este trabajo no fueron los esperados, ya que son inferiores a los establecidos en yeguas que presentan esta patología.

Esta inconcordancia puede estar relacionada con la técnica de análisis de laboratorio, la literatura recomienda que se realice radioinmunoensayo para detectar todas las cadenas β de la hormona (Goodin et al., 2011). Dentro del país no existen laboratorios para el análisis

específico de inhibina β en yeguas, por lo que es una limitante para la detección correcta de la patología. Se recomienda el análisis respectivo en laboratorios veterinarios aprobados.

Finalmente, varias investigaciones han determinado que la hormona antimulleriana y su análisis en concentraciones séricas es útil como marcador endocrinológico del TCG en yeguas. Esta es producida por las células de la granulosa de los folículos antrales que se encuentran en crecimiento y se expresa tanto en yeguas sanas como aquellas que presentan esta patología (Tsogtgerel et al., 2021).

En esta patología se encuentra normalmente aumentada, siendo un marcador específico de la presencia del TCG en ovarios de yeguas y como se demuestra en los resultados de la Tabla No. 3 estos están disminuidos. Cabe mencionar que la literatura establece que existe una correlación directa entre inhibina β y la antimulleriana (Boglárka et al., 2017), por lo que se puede inferir que los resultados obtenidos tiene una relación directa con la técnica de laboratorio utilizada por su análisis, en esta hormona la prueba de laboratorio recomendada para su análisis es inmunoensayo heterólogo logado a enzimas, por lo que pudo ser una limitante para su correcta cuantificación en este caso clínico (Gee et al., 2012).

Respecto a la pregunta de investigación, se puede determinar que el tumor de la granulosa sí tiene influencia sobre las hormonas reproductivas mencionadas a lo largo de este estudio (McCue et al., 2006). Los valores obtenidos en las Tablas 1, 2, 3 coinciden con el patrón típico de la presencia del tumor de la granulosa en yeguas, a pesar de que los valores obtenidos de testosterona no expliquen el comportamiento de semental, los hallazgos de la historia clínica de la yegua establecen que la actitud ninfómana estaba presente antes de la cirugía por lo que al encontrarse los niveles alterados de testosterona se podría pensar que la principal razón de esto es la falta de especificidad del reactivo utilizado para el análisis y la sensibilidad de la prueba.

RECOMENDACIÓN

El tumor de la granulosa (TCG) es una de las patologías más comunes en yeguas, sin embargo, a pesar de su alta prevalencia no se ha reportado este diagnóstico, sobre todo en Ecuador (Smith & Mair, 2008). Si bien es cierto, esta investigación se basó en información electrónica pero no hay que descartar la posibilidad de ampliar la información mediante visitas presenciales a diversas instituciones universitarias del país para encontrar información que posiblemente no ha sido reportada en la web por el momento.

Sería interesante poder monitorear y registrar los niveles hormonales a lo largo de un año a través de laboratorios veterinarios especializados y aprobados. El análisis que no se pudo realizar durante doce meses por cuestiones de tiempo. En la literatura se establece que el tiempo que tarda una yegua en volver a ciclar es de 6 a 12 meses aproximadamente por lo que las muestras deberían ser tomadas y analizadas a lo largo de este tiempo (McCue et al., 2006). Además, se recomienda que se realice pruebas histológicas de tumor para confirmar el diagnóstico de TCG, no se puede descartar que la neoplasia encontrada sea un tumor de células de la granulosa y células de la teca interna o un tecomoma ovárico, neoplasia de las células de la teca interna (Vanderwall et al., 2014)

Existen varias patologías interesantes que por lo general son tratadas a nivel clínico y no son reportadas al público, este es un llamado para incentivar a que los futuros colegas veterinarios y aquellos profesionales que ejercen la medicina veterinaria se motiven a publicar los hallazgos que se encuentran en la práctica diaria, no solo con la finalidad de aportar de conocimiento, sino también para contribuir al desarrollo de la medicina equina en nuestro país.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se pudo observar que el tumor de la granulosa sí influye sobre los valores normales de las hormonas progesterona, testosterona, estradiol, antimulleriana e inhibina β , sin embargo, sería importante continuar con esta investigación durante un año como mínimo para obtener mayor cantidad de datos que indiquen cómo el ovario contralateral que ha sido inhibido por el TCG durante bastante tiempo comienza a reactivarse para permitir que la actividad cíclica inicie nuevamente y que el médico veterinario cumpla con su propósito el cual es conseguir la gestación de la yegua, de esta forma también se logra evitar pérdidas económicas para los propietarios de los criaderos equinos.

Hay que considerar que la metodología utilizada para el análisis de las muestras sanguíneas es muy importante, ya que su manejo puede influir sobre los resultados. Aunque en el país, por el momento no se encuentran laboratorios que se dediquen específicamente en el análisis de este tipo hormonas en animales, los resultados podrían garantizarse y los errores podrían ser minimizados en los laboratorios existentes mediante el correcto análisis y manipulación de las muestras.

Además, no hay que olvidar que el diagnóstico de una patología va estrechamente relacionada a la signología clínica que se observa en nuestro paciente (Maurice, 2005) y aunque los valores de testosterona no expliquen el comportamiento de semental de nuestro paciente por las razones anteriormente expuestas, nuestra valoración del caso y en conjunto con las demás pruebas de diagnóstico realizadas podemos confirmar que el TCG sí influye en la reproducción animal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bailey, M. T., Troedsson, M. H. T., & Wheaton, J. E. (2002). Inhibin concentrations in mares with granulosa cell tumors. *Theriogenology*, *57*(7), 1885–1895. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00658-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00658-1)
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00594.x>
- Ball, Barry A., Conley, A. J., Almeida, J., Esteller-Vico, A., Crabtree, J., Munro, C., & Liu, I. K. M. (2014). A retrospective analysis of 2,253 cases submitted for endocrine diagnosis of possible granulosa cell tumors in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, *34*(2), 307–313. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.07.005>
- Bhardwaj, A., & Kulshrestha, S. (2020). Advance methods for the isolation and characterization of plant viruses infecting crops. In *Applied Plant Virology*. INC. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818654-1.00003-7>
- Boglárka, V., Gabriella, K., Krisztina, M., Osaba, J., Ottó, S., & Ferenc, B. (2017). Ovarian granulosa cell type tumour in a mare with embryonic loss: Case report. *Magyar Allatorvosok Lapja*, *139*(10), 589–597.
- Conley, A. J., Scholtz, E. L., Dujovne, G., Cotterman, R. F., Legacki, E. L., Uliani, R. C., Alvarenga, M. A., Ball, B. A., Kalra, B., Savjani, G. V., & Kumar, A. (2018). Inhibin-A and inhibin-B in cyclic and pregnant mares, and mares with granulosa-theca cell tumors: Physiological and diagnostic implications. *Theriogenology*, *108*, 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.003>
- Crabtree, J. (2011). Review of seven cases of granulosa cell tumour of the equine ovary. *Veterinary Record*, *169*(10). <https://doi.org/10.1136/vr.d4635>

- Gee, E. K., Dicken, M., Archer, R. M., Herdan, C. L., Pauwels, F. E. T., & Drayton, B. M. (2012). Granulosa theca cell tumour in a pregnant mare: Concentrations of inhibin and testosterone in serum before and after surgery. *New Zealand Veterinary Journal*, *60*(2), 160–163. <https://doi.org/10.1080/00480169.2011.645776>
- Goodin, J. T., Rodgerson, D. H., & Gomez, J. H. (2011). Standing Hand-Assisted Laparoscopic Ovariectomy in 65 Mares. *Veterinary Surgery*, *40*(1), 90–92. <https://doi.org/10.1111/j.1532-950X.2010.00771.x>
- Greci, V., Stefanello, D., Di Giancamillo, M., & Mortellaro, C. M. (2009). Case report rapport de cas. *Canadian Veterinary Journal*, *50*(11), 1191–1194.
- Gugoasa, L. A., & Staden, R.-I. S. (2017). Advanced Methods for the Analysis of Testosterone. *Current Medicinal Chemistry*, *25*(33), 4037–4049. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170724102602>
- Hoque, S., Senba, H., Tsunoda, N., Derar, R. I., Watanabe, G., Taya, K., Osawa, T., & Miyake, Y. I. (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. <https://doi.org/10.1292/jvms.65.887>
- HYATT, J., HANLON, D., & HOLLINSHEAD, F. (2015). Anti-Müllerian Hormone - a new test for the diagnosis of Granulosa Cell Tumours in mares. *CVE Control & Therapy Series*, *279*, 9–10.
- Kurihara, S., Hirakawa, T., Amada, S., Ariyoshi, K., & Nakano, H. (2004). Inhibin-producing ovarian granulosa cell tumor as a cause of secondary amenorrhea: Case report and review of the literature. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, *30*(6), 439–443. <https://doi.org/10.1111/j.1447-0756.2004.00231.x>
- Mair, T. S., & Hutchinson, R. E. (2007). Equine Veterinary Education: Editorial. *Equine Veterinary Education*, *19*(1), 3–4. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2007.tb00541.x>

- Maurice, K. T. (2005). Diagnosis and surgical removal of a granulosa-theca cell tumor in a mare. *Canadian Veterinary Journal*, *46*(7), 644–646.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2006.08.008>
- Müller, K., Ellenberger, C., Hoppen, H. O., & Schoon, H. A. (2012). Immunohistochemical study of angiogenesis and angiogenic factors in equine granulosa cell tumours. *Research in Veterinary Science*, *92*(3), 471–477. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.02.016>
- Prestes, N. C., Nogueira de Moraes, C., Maia, L., de Oliveira, I. R. S., Fabris, V. E., & Alvarenga, M. A. (2013). Ovarian Tumor in a Mare-Thecoma-Case Report. *Journal of Equine Veterinary Science*, *33*(3), 196–200. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2012.06.007>
- Smith, L. J., & Mair, T. S. (2008). Unilateral and bilateral laparoscopic ovariectomy of mares by electrocautery. *Veterinary Record*, *163*(10), 297–300. <https://doi.org/10.1136/vr.163.10.297>
- Tsogtgerel, M., Tagami, M., Watanabe, K., Murase, H., Hirose, Y., Kobayashi, Y., & Nambo, Y. (2021). Case report: The case of a 17 kg ovarian granulosa cell tumor in a breton draft mare. *Journal of Equine Science*, *32*(2), 67–72. <https://doi.org/10.1294/jes.32.67>
- Umer, S., Zhao, S. J., Sammad, A., Sahlu, B. W., Yunwei, P., & Zhu, H. (2019). AMH: Could it be used as a biomarker for fertility and superovulation in domestic animals? *Genes*, *10*(12), 1–14. <https://doi.org/10.3390/genes10121009>
- Vanderwall, D. K., Rood, K. A., & Veterinarian, U. E. (2014). *How to Use Anti-Müllerian Hormone Testing to Diagnose Granulosa Cell Tumors in Mares*. September, 1–6.
- Wu, J., & Ju, H. X. (2012). Clinical immunoassays and immunosensing. *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*, *3*, 143–167. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12->

381373-2.00071-5