

REPORTE DE CASO

Diagnóstico y tratamiento de un tumor de células de la granulosa en una yegua criolla colombiana

Diagnostic and treatment of the granulosa cell tumor of colombian mare creole

MORA V., MVZ, MSc. (In memoriam q.e.p.d.); FUENTES E., MVZ, MSc PhD; GONGORA A., MV MSc, Dr Sci. Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad de los Llanos. A.A 2621, Villavicencio Meta Colombia. agongora@unillanos.edu.co

Recibido: Agosto, 27 de 2004 - Aprobado: Diciembre, 2 de 2004

R E S U M E N

Los tumores ováricos son de relativa importancia en la práctica reproductiva equina, dentro de estos, el tumor de las células de la granulosa (TCG) es el de mayor presentación, aunque no se conoce con profundidad la patogénesis. Se sugiere que la falla en la ovulación mas otros factores adicionales pueden te-

ner importancia. Este artículo describe los signos clínicos, ultrasonografía, niveles hormonales, histopatología, diagnóstico y tratamiento de un TCG en una yegua criolla colombiana llevada para consulta a la clínica de grandes animales de la Universidad de los Llanos. La descripción de este caso podría

servir de ayuda a los clínicos particulares en la orientación objetiva del diagnóstico, ante nuevos reportes, dado el significativo crecimiento de esta industria.

Palabras clave: equino, neoplasia, células de la granulosa, reproducción.

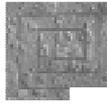
A B S T R A C T

The ovarian tumors are of relative importance in the practices it reproductive equine, inside these, the granulosa cell tumors (TCG) it is that of more presentation, although one doesn't know with depth the pathogenesis. It is suggested that the fails in the ovulation but other additional factors can have impor-

tance. In this article case of equine granulosa cell tumors is reported, diagnosed by the clinical signs, ultrasonographic examination, hormonal levels, histopathology, diagnosis and treatment of a TCG in a Colombian Creole Mare taken for consultation to the clinic of big animals of the Llanos University. The

description of this case could serve from help to the practitioner clinical in the objective orientation of the diagnosis, before new reports, given the significant growth of this industry.

Key words: Equine, Mare, Granulosa Cell tumors, Reproduction.



INTRODUCCIÓN

El desarrollo de una neoplasia es el resultado de una serie de eventos, en el cual confluyen varias mutaciones y un proceso de selección natural hacia una determinada población celular, lo que permite su proliferación incontrolada y por ende la formación del tumor. Los reareglos de oncogenes y genes supresores de tumor, están implicados en la regulación de la proliferación, diferenciación y apoptosis celular (Saundefedt 1999).

En la práctica reproductiva equina las neoplasias del tracto reproductivo son relativamente frecuentes (Jones et al., 1979;

Nielsen y Kennedy 1990). Dentro de los tumores del ovario, el tumor de las células de la granulosa (TCG) es él más común, y afecta a las yeguas principalmente entre los 5 y 7 años de edad, caracterizado por ser unilateral, hormonalmente activo e induce cambios importantes en el comportamiento reproductivo de la yegua (McCue, 1992; McCue, 2000; Chopin et al., 2002), también se reportan con menor frecuencia el cistadenoma como un tumor de la superficie epitelial ovárica, sin ser hormonalmente activo (Hinrichs et al., 1989; Hughes et al., 1980). Otros tumores de

menor presentación son el teratoma y disgerminoma, el primero de naturaleza benigna y el segundo maligno (Frazer, y Threlfall, 1986; Mcintee, 1990)

El TCG desencadena principalmente tres tipos de comportamiento en la yegua, *1*) comportamiento agresivo o de macho, al quedar en contacto con otros animales. *ii*) estro continuo o irregulares (Ninfomanía). *iii*) anestro. Las yeguas que presentan un TCG, presentan elevados niveles de testosterona plasmática, dado a un mecanismo de retroalimentación negativo sobre la hipófisis.

DESCRIPCIÓN DEL CASO

Se recibió para consulta en la clínica de grandes animales de la Universidad de los Llanos, una yegua criolla de paso fino colombiano color zaino, de 6 años de edad con peso de 319 kg en aparente buen estado de salud, con

antecedentes de anestro e infertilidad y alteración en el comportamiento durante los últimos 18 meses. Al examen clínico las constantes fisiológicas se encontraron dentro de los valores normales. A la palpación rectal se

encontró un útero de apariencia normal, el ovario (derecho) presentó una consistencia dura con aumento exagerado de tamaño. El ovario contralateral se palpó pequeño e inactivo.

Evaluación ultrasonográfica

El examen ultrasonográfico transrectal con sonda lineal de 5.0 y 7.5 MHz (Pie Medical-200^R), evidenció un ovario agrandado mayor de 10 cm de diámetro, el tumor de células de la granulosa tenía la apariencia

de un ovario transicional conteniendo numerosos folículos anecogénicos de menos de 25 mm de tamaño, a manera de una estructura poliquística semejante a un panel de abejas, mayor de 10 cm de longitud x 8 cm de

ancho. Figura 1. El ovario contralateral se observó pequeño e inactivo menor de 4 cm de diámetro, homogéneo, moderadamente de estructura ecogénica con folículos anecogénicos menores de 10 mm.

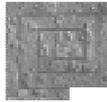


Figura 1. Ultrasonografía de ovario derecho de una yegua criolla Obsérvese Masa tumoral de 7.57 cm de ancho de apariencia poliquística, no abarcable en toda su extensión por el transductor



Determinación de Testosterona plasmática

Se tomó una muestra de sangre de la vena yugular en tubo vacutainer^R estéril sin anticoagulante, el suero extraído fue enviado a un laboratorio clínico para seres humanos, especializado para la determinación de testosterona mediante un

Kit comercial ELISA- Inmunofluorescencia, utilizando

un lector Minividas^R. encontrando niveles de 100 pg/ml.

Diagnóstico

El diagnóstico del TCG fue realizado con base a las alteraciones del comportamiento de la

yegua, signos clínicos, hallazgos a la palpación, examen ultrasonográfico transrectal,

histopatología y por los altos niveles de testosterona plasmática.

Procedimiento Quirúrgico

Previo ayuno de 24 horas, se realizó medicación preanestésica con xilazina y valium a una dosis de 0.5 y 0.01 mg/kg IV respectivamente y anestesia general con clorhidrato de ketamina a una dosis de 2.0 mg/kg IV y mantenimiento durante el tiempo que duró la intervención quirúrgica con la mitad de la dosis inicial. El abordaje quirúrgico fue paramedial diagonal a nivel del vientre, al lado res-

pectivo donde se encontraba el ovario afectado.

La apariencia macroscópica del ovario extraído reveló un aumento exagerado de tamaño, de consistencia dura, de color amarillo a naranja sin presencia de la fosa de la ovulación y altamente vascularizado con un peso de 220 gr. Figura 3. Al corte con bisturí se observó la presencia de quistes llenos de fluido sero-

so y sanguinolento Figura 4.

En el postoperatorio se prescribió flumixin meglumina a la dosis de 1.1mg/kg de peso vivo vía IM por 4 días y Dalipen[®] 6: 6 - Penicilina sódica y procainica + Estreptomicina- a una dosis de 20.000 U.I/Kg y 20 mg/Kg de peso corporal, respectivamente, cada 12 horas por 5 días, el cual no presentó ninguna complicación posterior.



Figura 3. Apariencia Miocscópica del TCG ob-sérvese la alta vascularidad de la cápsula.



Figura 4. Corte sagital del TCG con presencia de quistes.

Evaluación Histopatológica

Se enviaron para estudio histopatológico muestras de diferentes sitios del tumor las cuales fueron fijadas en formalina buferada al 10% y embebidas en parafina, realizando cortes de $4\mu\text{m}$ las cuales fueron teñidas con H&E. Por microscopía de luz en los cortes histológicos, se observaron numerosas capas celulares y estructuras foliculares

sólidas o microquísticas. Las células ubicadas hacia el centro de los folículos presentaban cantidad moderada a abundante de líquido ligeramente eosinófilo y una morfología redondeada o poliédrica.

En la periferia de los folículos se observó varias capas de células alargadas en disposición ra-

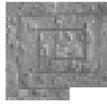
dial. Exteriormente a estas capas basales, se observó la presencia de células de la teca de apariencia ovoide o fusiforme. En el estroma que rodea los folículos se observaron fibroblastos y fibras de colágeno. La cápsula del tumor presentó gran cantidad de tejido conectivo denso regular con presencia de vasos sanguíneos (Figura 5).

D I S C U S I Ó N

Aparentemente el diagnóstico del TCG no es difícil si se conoce los antecedentes del animal y se cuenta con adecuadas ayudas diagnósticas. No se conoce con

precisión los factores involucrados en la patogénesis de las neoplasias ováricas, aunque se sugiere que el cese de la ovulación, mas un factor adi-

cional, probablemente de tipo hormonal jueguen un papel importante (Risch, 1998). Estudios en seres humanos han revelado que existe una alteración



en la expresión de los receptores de la protein-kinasa, por tanto, este mecanismo debería ser incluido dentro de la patogénesis (King, 2003)

La ultrasonografía fue de alto valor diagnóstico observándose presencia de folículos quísticos de apariencia anecogénica, los cuales semejan un panal de abejas, tal como ha sido descrito (White y Allen 1985; Hinrichs y Hunt, 1990; Mottershead, 2000). Aunque los niveles de inhibina no fueron analizados, un informe del Departamento de Reproducción Animal de la Universidad de Davis California, señala que la presencia del TCG puede ser diagnosticado en un 90% por los altos niveles de esta hormona. La inhibina normalmente es producida por las CG y su función es regular la secreción de FSH a nivel de la pituitaria, por tanto una yegua con TCG tendrá altos niveles de inhibina y bajos de FSH (McCue, 1992). Los altos niveles de inhibina podrían explicar el menor tamaño y la escasa funcional del ovario contralateral, ya que la FSH promueve esencialmente el desarrollo folicular.

Recientes estudios de biología molecular han demostrado que las células del TCG expresan mRNAs tanto para la subunidad α como para la subunidad β de inhibina, demostrando así el efecto sobre las gonadotropinas, este mecanismo en opinión de los

investigadores podría ser utilizado en el futuro como modelo para el estudio de la regulación genética y avanzar en la génesis del tumor especialmente en humanos (Piquette et al., 2004).

El TCG secreta otra cantidad de hormonas como progesterona, estrógenos y androstenediona (Kennedy y Ganjam, 1975; Stabenfeldt et al., 1979; Neinecke y Gips, 1987; Bailey et al., 1997), lo que sugiere una correlación con los signos clínicos, de esta forma, las altas concentraciones de estrógenos deberían correlacionarse con estros prolongados y ninfomanía, las bajas concentraciones de P_4 (< 100 pg/ml) con escasa funcionalidad luteal y las altas concentraciones de testosterona con comportamiento agresivo y de macho. Algunos valores de referencia como niveles de inhibina > 0.7 ng/ml, testosterona $> 50-100$ pg/ml y progesterona < 1.0 ng/ml sugieren un TCG (McCue, 2000).

Se ha sugerido que la determinación de inhibina sería de gran ayuda para establecer un diagnóstico diferencial con otros problemas ováricos, por ejemplo con un hematoma ovárico, desafortunadamente en este caso, no fue analizada por la ausencia de disponibilidad de la prueba en el país por laboratorios especializados. El aumento en los niveles de testosterona permitió confirmar la naturaleza

del tumor, aunque se cree que la inhibina es un marcador mucho más confiable (McCue, 1992).

El tratamiento de elección es la ovariectomía unilateral, que puede ser realizada por la vía vagina -Colpotomía- fosa paralumbar o paramedial diagonal al vientre, dependiendo del diámetro del tumor, edad y temperamento de la yegua. La mayoría de las yeguas ovariectomizadas, debido a un TCG retornan a la actividad cíclica normal, pudiendo volver a la reproducción en la próxima estación de monta.

La extirpación quirúrgica suele tener carácter curativo y además de eliminar los tumores, corrige las anomalías del ciclo estral y del comportamiento, que suelen estar presentes debido a la cantidad variable de hormonas esteroides sexuales secretadas por los tumores. La cirugía fue la mejor decisión, tal como lo recomiendan diversos autores (Jones et al., 1997; Marcella, 2004) Lo cual no interfirió con la vida reproductiva de la yegua, pudiendo quedar preñada 6 meses después. Es importante advertir que si se permite un mayor crecimiento de este tumor, puede llevar a la ruptura de vasos sanguíneos y por consiguiente la muerte del animal.

Finalmente la histopatología se

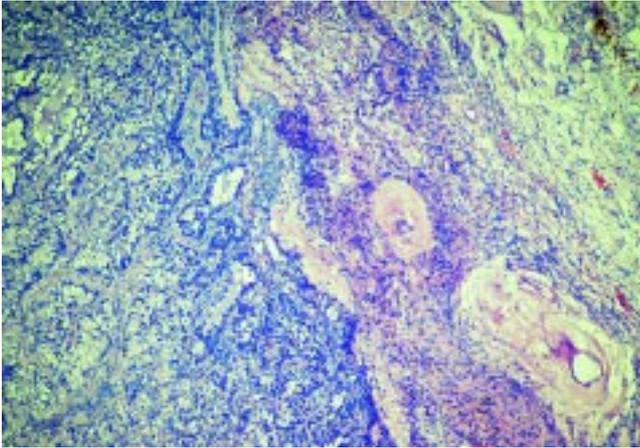


Figura 5. Corte histológico del TCG. Obsérvese el grosor de la cápsula con fuerte presencia de tejido conectivo y vasos sanguíneos de diversos tamaños, coloración H&E 100x.

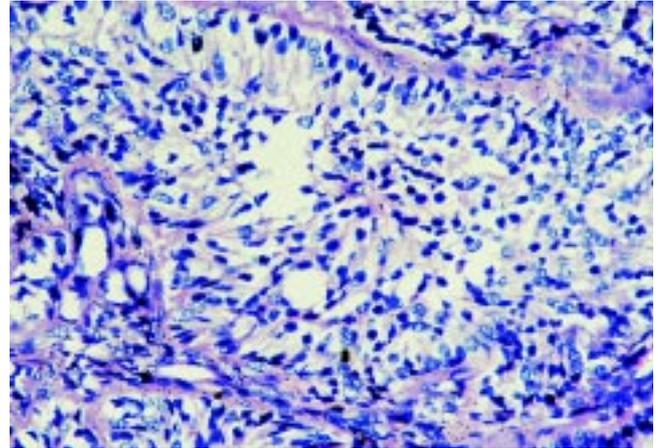


Figura 6. Corte histopatológico TCG de yegua. Obsérvese el crecimiento desordenado de células neoplásicas de forma ovalada o cuboidal con presencia de trabéculas de tejido fibroso. Coloración H&E100X.

constituyó en el diagnóstico definitivo, caracterizado por un crecimiento desordenado de células neoplásicas de forma ovalada o cuboidal y aumento de vasos sanguíneos y tejido fibroso a nivel de cápsula. Se recomienda finalmente un adecuado examen clínico, en la fase inicial del tumor, acompañado de unas buenas ayudas diagnósticas, las cuales permitan identificar prontamente el TCG, siendo la ovariectomía unilateral el mejor tratamiento. Las posibilidades de recuperación de la fertilidad son altas, con retorno a actividad reproductiva normal.

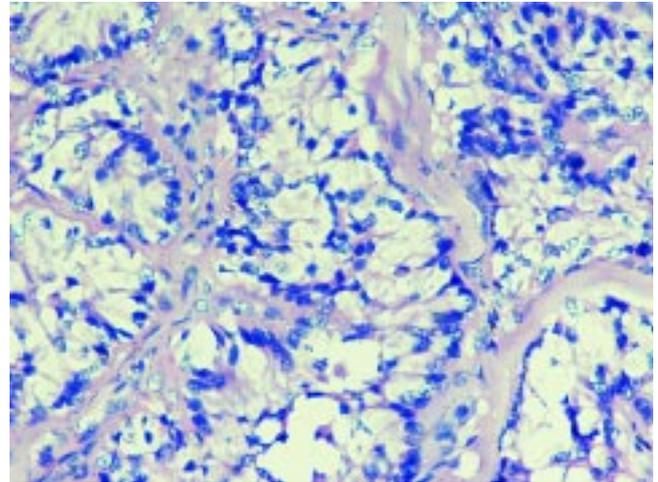


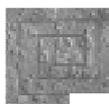
Figura 7. Corte histopatológico Ovario, TCG de yegua. Obsérvese presencia de células neoplásicas arregladas en forma de rosetas, con restos de folículos y gran cantidad de trabéculas de tejido fibroso. Coloración H&E 100X.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan los agradecimientos a la Doctora Carmen Molina MVZ, Profesora de Cátedra de la Escuela de MVZ de la Universidad de los Llanos.

Al Doctor Pedro René Eslava-Mocha, MVZ, MSc. Profesor del Instituto de Acuicultura de los Llanos (IALL) por el apoyo en el diagnóstico patológico.

Al Señor Carlos Izáquita histotecnólogo del IALL por el procesamiento de las muestras.



BIBLIOGRAFÍA

- BAILEY, T., J. DASCANIO., N. PARKER. 1997. Diagnostic procedures in mare reproduction.: hormonal evaluation and genetic testing. *Compend Contin Educ.*; 19:1183-1189.
- CHOPIN, J., L. CHOPIN., DM. DE KRETZER., K. DOWSETT. 2002 Unusual ovarian activity in mare preceding the development of an ovarian granulosa cell tumor. *Am. Vet. J.* 80 1-23-36
- FRAZER, G.S., W. THRELFALL. 1986 Differential diagnosis of enlarged ovary in the mare. In: *Proceedings of the 32nd Annu Conv Am Assoc Eq Pract*; 21-28.
- HINRICH, K., G. FRAZER., R. DEGANES. 1989 Serous cystadenoma in a normally cyclic mare with high plasma testosterone values. *J Am Vet Med Assoc*; 194:381-382.
- HINRICH, K., P. HUNT. Ultrasound as an aid to diagnosis of granulosa cell tumour in the mare. *Equine Vet J* 1990; 22:99-103.
- HUGHES JP, P. KENNEDY., G. STABENFELDT. 1980 Pathology of the ovary and ovarian disorders in the mare. In: *Proceedings of the 9th Int Cong Anim Reprod Artif Insem*; 203-222.
- JONES TC, R. HUNT, N. KING. 1997. *Veterinary Pathology*, 6th ed. Pp 1159-1162 Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
- KENNEDY, R., V. GANJAM. 1975 Selected pathological changes of the mare uterus and ovary. *J. Reprod. Fertil Supp.*:23:335-339.
- KING, D. 2003. Differential expression of GRK isoforms in nonmalignant and malignant granulosa cells. *Endocrine*, 22:2 135-141
- McCUE P. 1992 Equine granulosa cell tumors. *Proc Am Assoc Equine Practice.*:38:587-593.
- MARCELLA, K. 2004. Equine ovarian tumors. *DVM Cleveland* 35:4
- McCUE P. 2000 Diagnosis of Ovarian Abnormalities. In: *Recent Advances in Equine Reproduction*, Ball B.A. (Ed.) International Veterinary Information Service, Ithaca NY (www.ivis.org),
- McENTEE K. 1990 *Reproductive Pathology of Domestic Animals*. New York: Academic Press,; 79-84
- MOTTERSHEAD J. 2000 Granulosa Cell Tumor Disponible en Internet: <http://www.GranulosaCellTumor.htm>
- NEINECKE B, H. GIPS. 1987 Steroid hormone secretion patterns in mares with granulosa cell tumors. *J Vet Med Series*; 34:545-560
- NIELSEN SW, P. KENNEDY. 1990 Tumors of the genital systems. In: *Tumors in domestic animals*, ed. Moulton JE 3rd ed. Pp 503-507, University of California Press.
- PIQUETTE, G., R. KENNEY., P. SERTICH., M. YAMOTO., A. HSUEH 2004 Equine granulosa-theca cell tumors express inhibin alpha- and beta A- subunit messenger ribonucleic acids and proteins. *Biology of Reproduction*, Vol 43, 1050-1057,
- RISCH, H. 1998 Ovarian cancer pathology hormones reproductiva system. *J. Natl Cancer Inst.* 90::1774-1786.
- THOMAS H. Ovarian tumors in mares. Disponible en internet: www.Aprilcalifornia.toroughbrd.htm
- SAUNDEFEDT, K. 1999. Department of Physiology and Pharmacology, Section Endocrinology. University of Gotebor, Sweden,
- STABENFELDT, G., J. HUGHES., P. KENNEDY., D. MEAGHER., D. NEELY. 1979. Clinical findings pathological changes and endocrinological secretory patterns in mares with ovarian tumors. *J. Reprod. Fertil Supp.*; 27:277-285.
- WHITE, R., W. ALLEN. 1985 Use of ultrasound echography for the differential diagnosis of granulosa cell tumour in a mare. *Equine Vet J*; 17:401-402.