



**Universidad
Zaragoza**

Trabajo Fin de Máster

VALORACIÓN ECOGRÁFICA DE LA VASCULARIZACIÓN TESTICULAR EN EL CABALLO

**Comparación entre animales con y sin actividad
reproductiva**



Autor: Laura Barrachina Porcar

Directores: Lydia Gil Huerta

Francisco José Vázquez Bringas

Facultad de Veterinaria. Curso 2011- 2012

AGRADECIMIENTOS

- Lydia Gil Huerta y Francisco José Vázquez Bringas, como directores de este proyecto, por todo su tiempo y ayuda.
- Pablo Gómez Ochoa, por su imprescindible colaboración en la realización de las ecografías.
- Ignacio De Blas Giral, por su trabajo con el análisis estadístico del proyecto.
- Arantza Vitoria Moraiz y Antonio Romero Lasheras, por su ayuda para realizar el trabajo de campo y con los animales hospitalizados en el HV-UZ
- Residentes e Internos del Área de Grandes Animales del Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza, por su ayuda para realizar el trabajo dentro del HV-UZ.
- A la Dirección del HV-UZ, por ceder el uso instalaciones y del equipo ecográfico para este proyecto

RESUMEN

Diversos autores han utilizado la herramienta del Doppler para caracterizar objetivamente el flujo sanguíneo testicular normal y para ver la influencia sobre éste de condiciones fisiológicas (edad, estación reproductiva), de fármacos (hCG, pentoxifilina) y de alteraciones (hidrocele, atrofia, torsión del cordón testicular).

El objetivo principal de este estudio es el de utilizar la técnica Doppler para valorar si existen diferencias en la vascularización testicular en función del estatus reproductivo del caballo, dado que se ha visto la influencia de las hormonas reproductivas sobre la perfusión testicular y la asociación entre niveles hormonales y estatus reproductivo. Hallar estas diferencias permitiría mejorar la evaluación ecográfica del semental, aportar nuevos valores a los orientativos ya publicados, y reforzar la importancia de la vascularización testicular y del estudio de métodos para mejorarla como camino hacia una mayor eficiencia reproductiva del semental. Así mismo, Doppler permitiría detectar alteraciones en los testículos examinados, por lo que un objetivo más sería darle este uso y analizar los datos obtenidos. Un objetivo adicional es el aprendizaje de la técnica ecográfica y del uso del Doppler para valorar la vascularización testicular en el caballo

Para este estudio se emplearon 15 caballos enteros de distinta edad y raza, divididos en 2 grupos: El GRUPO A englobó a 6 animales que, pese a estar enteros, no tenían acceso a actividad reproductiva. El GRUPO B incluyó a 6 sementales que estaban cubriendo durante el estudio. Los otros 3 caballos no se incluyeron en ningún grupo por presentar alteraciones testiculares en el examen.

Fueron necesarios dos ecógrafos para realizar las valoraciones: uno fijo y uno portátil, ambos con sonda lineal de 10 y de 8 a 12 MHz, respectivamente. El examen se llevó a cabo con 3 modos ecográficos, usados sucesivamente en cada testículo: modo 2D o escala de grises, modo Doppler Color y modo Doppler Pulsado. En cada testículo se midieron 3 arterias intratesticulares, y de cada una se tomaron 3 valores de cada parámetro (PSV, EDV, RI y PI). También se ha estudiado la forma de las ondas en cada animal.

No se han encontrado diferencias significativas entre testículo izquierdo y derecho para ninguno de los parámetros, además se ha visto correlación entre los cuatro parámetros.

Los resultados obtenidos revelan unos mayores valores de PSV, EDV, RI y PI en el GRUPO B respecto del A. Sin embargo, el análisis estadístico muestra que, en las condiciones de este estudio, no existen diferencias estadísticamente significativas entre el GRUPO A y el GRUPO B. No obstante, podrían obtenerse dichas diferencias ampliando el número de caballos por grupo.

El mayor valor de RI y PI en el GRUPO B podría explicarse por la fibrosis testicular hallada en 5 de los 6 caballos del grupo, en mayor o menor grado. En estos caballos también se han encontrado ondas bifásicas. En cuanto a los caballos que presentaron alteraciones, la ecografía con Doppler demostró ser una herramienta muy útil para su detección y valoración de la repercusión en el flujo sanguíneo.

Como conclusión, en las condiciones de este estudio, no existen diferencias significativas en la vascularización testicular del caballo asociadas con su estatus reproductivo. Hallar estas diferencias podría servir para mejorar la valoración del semental, resaltar la importancia de la vascularización testicular para la función reproductiva y ayudar a justificar la investigación de métodos que mejoren dicha vascularización y aumenten la eficiencia reproductiva del semental. Además, el Doppler demuestra ser una técnica con mucho potencial tanto para la valoración del semental y detección de anomalías, como para la investigación y desarrollo de mejoras reproductivas. El aprendizaje de la técnica, si bien requiere cierto adiestramiento, es bastante asequible y sencillo.

SUMMARY

Several authors have used Doppler ultrasonography as a tool to characterize objectively the normal testicular blood flow in stallion. This technique also allows studying the influence of different physiologic factors (age, reproductive season), drugs (hCG, pentoxifiline) and pathologies (hydrocele, torsion of spermatic cord, atrophy) on the testicular perfusion.

The main objective of this study is to use the Doppler technique to assess if there are differences in the testicular vascularization depending on the reproductive status of the stallion, since it has seen the influence of reproductive hormones on testicular blood flow, and the relationship between reproductive hormones and socio-reproductive status. Find these differences would improve the ultrasonography evaluation of stallion, provide new orientative values, reinforces the importance of testicular perfusion and the importance of studying new methods to improve it as a path to greater reproductive efficiency of stallion. In addition, Doppler would allow to detect alterations in examined testicles, so another objective would be perform this use and analyze the data obtained. An additional goal is learning the ultrasound technique and the use of Doppler mode to assess the testicular perfusion.

For this study, were used 15 stallions of different age and breed. They were divided in 2 groups: the GROUP A included 6 animals without access to reproductive activity. The GROUP B included another 6 stallions that were mounting during the study. The 3 remaining stallions were not included in any group due to testicular alterations found in the exam.

Two ecographs were needed to perform the assessments. One of them was portable equipment. Both of them were used with linear transducer of 10 and of 8-12 MHz, respectively. The ultrasound examination was made with 3 ultrasound modes: Gray Scale, Color Doppler and Pulsed Doppler. In every testicle were taken measurements of 3 intratesticular arteries, and in every artery were taken 3 values of every parameter (PSV, EDV, RI and PI). It was also studied the waveform in every animal.

Differences between left and right testicles were not found for any parameter. In addition, it has seen correlation between 4 parameters in left and right testicles.

Results obtained shows greater values of PSV, EDV, RI and PI in the GROUP B in comparison whit GROUP A. Though, the statistical analysis shows that, in the conditions of this study, do not exist differences statistically significant between GROUP A and B. However, it can be obtained these differences expanding the number of animals per group. The greater value of RI and PI in the GROUP B can be explained by the testicular fibrosis found in 5 of 6 stallions of the group. In these stallions were also found biphasic waveforms. In stallions that presented pathological alterations of their testicles, Doppler ultrasonography proved to be a very useful tool by detects these alterations and by assess the repercussion on the blood flow.

In conclusion, in the conditions of this study, do not exit significant differences in testicular perfusion associated with reproductive status. Find these differences may be useful to improve the stallion evaluation, support the importance of testicular blood flow for reproductive function, and help to justify the investigation of methods that improve testicular perfusion. In the

other hand, Doppler shows are a technique with great potential for the evaluation of the stallion and anomaly detection, both for research and development of reproductive improvements. Learning the technique, although it requires some training, is quite affordable and simple.

ÍNDICE

Agradecimientos	2
Resumen	3
Summary	5
Índice de tablas	8
Índice de imágenes	9
Índice de abreviaturas	10
Introducción	12
Objetivos	15
Revisión bibliográfica	16
Anatomía de los órganos genitales del semental	16
Vascularización de los testículos del semental.....	17
Ecografía: Bases y Principios.....	18
Ecografía Testicular	19
Doppler Testicular	19
Material y Métodos	28
Materiales	28
Material animal	28
Material inventariable	29
Métodos	30
Técnica ecográfica	30
Medición de los parámetros Doppler	32
Análisis estadístico	33
Diseño experimental	34
Resultados y Discusión	35
Conclusiones	43
Bibliografía	45
Anexo 1	50
Anexo 2	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Medidas del flujo sanguíneo en las arterias testiculares en 41 caballos. Pozor y McDonnell, 2004. Color Doppler Ultrasound Evaluation of Testicular Blood Flow in Stallions

Tabla 2: Medidas del flujo sanguíneo en las arterias testiculares en 10 caballos con patologías testiculares. Pozor y McDonnell, 2004. Color Doppler Ultrasound Evaluation of Testicular Blood Flow in Stallions

Tabla 3: Flujo sanguíneo total de la arteria (TABF = total arteria blood flow). Pozor y McDonnell, 2007. Evaluation of Testicular Vasculature in Stallions

Tabla 4: Ratio del flujo sanguíneo total de la arteria (TABFR = total arteria blood flow rate). Pozor y McDonnell, 2007. Evaluation of Testicular Vasculature in Stallions

Tabla 5: Relación de caballos incluidos en los GRUPOS A y B

Tabla 6: Relación de caballos excluidos de los GRUPOS A y B por presentar alteraciones testiculares

Tabla 7: Valores medios de PSV, EDV, RI y PI de los testículos izquierdo y derecho, individuales y grupales. Desviación típica y significación ($p < 0.005$). GRUPO A

Tabla 8: Valores medios de PSV, EDV, RI y PI de los testículos izquierdo y derecho, individuales y grupales. Desviación típica y significación ($p < 0.005$). GRUPO B

Tabla 9: Correlación entre PSV, EDV, RI y PI del testículo izquierdo, con PSV, EDV, RI y PI del testículo derecho, y significación de la correlación ($p < 0,005$). Estudio global sin diferenciar en grupos A y B (N=12).

Tabla 10: Rangos, Medias y Desviación Típica de PSV, EDV, RI y PI de los GRUPOS A y B. Significación de la diferencia entre PSV, EDV, RI y PI de los GRUPOS A y B

Tabla 11: Comparación de los valores de PSV, EDV, RI y PI de un caballo monórquido con hidrocele con los valores medios de PSV, EDV, RI y PI del GRUPO A

Tabla 12: Comparación de los valores de PSV, EDV, RI y PI de un caballo criptóquido (testículo descendido y testículo criptórquido) con los valores medios de PSV, EDV, RI y PI del GRUPO A

Tabla 13: Comparación de los valores de PSV, EDV, RI y PI de un caballo con un trauma escrotal (testículo dañado y testículo sano) con los valores medios de PSV, EDV, RI y PI del GRUPO B

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1: Tracto reproductivo del caballo. Senger 2003. "Pathways to pregnancy and parturition" Capítulo 3.

Imagen 2: Tracto reproductivo del caballo. Senger 2003. "Pathways to pregnancy and parturition" Capítulo 3.

Imagen 3: Molde vascular arterial del testículo. Veterinary Anatomy 2012

Imagen 4: Ecógrafo portátil modelo Logic E de General Electric. <http://www.medicalexpo.es>

Imagen 5: Ecógrafo fijo modelo HDI-3000 de ATL. <http://www.aplimed.com.ar>

Imagen 6: Sonda ecográfica lineal L12-5 del ecógrafo HDI-3000 de ATL

Imagen 7: Potro de contención para realizar el examen ecográfico testicular

Imagen 8: Aplicación de gel de ecografía en el testículo para mejorar la obtención de imágenes ecográficas

Imagen 9: Colocación del ecógrafo a la parte posterior del animal para realizar el examen ecográfico testicular

Imagen 10: Colocación de la sonda ecográfica lineal para iniciar el examen ecográfico testicular desde el polo caudal del testículo

Imagen 11: Colocación del operador, a la parte posterior del animal y junto al ecógrafo, para realizar el examen ecográfico testicular y poder manejar simultáneamente la sonda y el ecógrafo

Imagen 12: Ecografía testicular con modo Escala de Grises

Imagen 13: Ecografía testicular con modo Doppler Color (CDU)

Imagen 14: Ecografía testicular con modo Doppler Pulsado

Imagen 15: Obtención de los parámetros PSV, EDV y RI sobre la onda de flujo sanguíneo obtenida con Doppler Pulsado.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Cols: Colaboradores

ICSI: Inyección Intracitoplasmática del espermatozoide

PW: Pulsed Wave o Doppler Pulsado

CDU: Color-flow Doppler ultrasonography o Doppler Color

PSV: Peak Systolic Velocity o Velocidad Sistólica

EDV: End Diastolic Velocity o Velocidad Diastólica

RI: Resistive Index o Índice de Resistencia

PI: Pulsatility Index o Índice de Pulsatilidad

SPRS: Sperm Production Rate Score o Ratio de la Producción de Semen

FSH: Hormona Foliculoestimulante

TABF: Total Arteria Blood Flow o Flujo Sanguíneo Arterial Total

TAMV: Time-Averaged Maximum Velocity o Promedio de la Velocidad Máxima

TAMF: Time-Averaged Maximum Frequency Shift o Cambio en el Promedio de la Frecuencia Máxima.

α : Ángulo entre los ultrasonidos y el flujo sanguíneo

A: Área de sección de la arteria

r : Radio de la arteria (diámetro / 2)

TABFR: Total Arteria Blood Flow Rate o Ratio del Flujo Sanguíneo Arterial Total

V: Volumen Total del Testículo

W: Width, anchura del testículo

H: Heigh, altura del testículo

L: Length, longitud del testículo

hCG: Human Chorionic Gonadotrophin o Gonadotropina Coriónica Humana

LH: hormona luteinizante

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

PRE: Pura Raza Español

HV-UZ: Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza

PSI: Pura Sangre Inglés

2D: Dos dimensiones

INTRODUCCIÓN

La reproducción es uno de los campos de la medicina veterinaria equina más importantes. Los caballos son, al fin y al cabo, animales de producción. El producto obtenido puede ser un animal destinado al consumo humano, pero en la mayoría de las ocasiones será dedicado a la vida deportiva o bien a ser un animal de compañía. Esto hace que el potro sea un producto más valioso que los de otras especies de producción, y que, por lo tanto, se dediquen mayores esfuerzos a su obtención. Así pues, optimizar la reproducción es un paso fundamental para aumentar la rentabilidad de su producción, puesto que es un animal costoso de obtener. En los últimos años ha habido numerosos avances dentro de esta área. La yegua, tradicionalmente, ha centralizado el interés en el ámbito de la reproducción, dado que en ella tiene lugar la fecundación y ella lleva a cabo la gestación (**Hinrichs y cols, 2005 (a)**). Por ello, en los últimos años, han sido muchos los avances en técnicas y herramientas para optimizar el papel de la hembra. El macho, sin ser relegado ni mucho menos olvidado, bien es cierto que suele recibir menos atenciones (**Morel, 2007 (b)**). De hecho, y aunque no siempre es así, en muchas ocasiones su examen se limita a una o varias valoraciones de la calidad seminal durante la temporada reproductiva, realizando más pruebas sólo si surgen problemas. Sin embargo, el macho es una parte fundamental en la producción equina, y por ello, es recomendable que sea objeto de mayores atenciones. De hecho, en los últimos años, las tecnologías reproductivas orientadas al macho están cambiando rápidamente y hay un número creciente de posibilidades.

Las nuevas opciones encaminadas a mejorar la producción incluyen la fecundación *in vitro* (**Del Campo y cols, 1990**), la inyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI) (**Hinrichs, 2005 (b)**), la posibilidad de sexar el semen (**Samper y cols, 2012**), técnicas de criopreservación del semen (**Pickett y cols, 1993**), la obtención y conservación de semen epididimal (**Papa y cols, 2008**), y así hasta un largo número de técnicas (**Ball, 2004**). Otro campo de interés en reproducción es el de la modulación del comportamiento reproductivo, especialmente en el macho, con el objetivo de aumentarlo (por ejemplo, sementales que no quieren cubrir) o disminuirlo (ej. caballos cuyo temperamento agresivo supone un problema para su uso deportivo), (**Stout, 2005**).

El área de las modalidades diagnósticas, también de gran interés, es en el que se centra el presente trabajo. Se han venido desarrollando numerosos métodos que potencialmente podrían mejorar la capacidad del veterinario para evaluar la fertilidad del semental y la calidad seminal (**Ball, 2004**). Entre algunos de estos métodos diagnósticos, destacan la biopsia testicular (**Faber y cols, 2000**) y una gran variedad de pruebas para valorar el semen y la función espermática (**Ball, 2004**). Una de las técnicas que está cobrando mayor relevancia en los últimos años es precisamente sobre la que versa este trabajo: la ecografía testicular, y muy especialmente, el uso del modo Doppler (**Pozor, 2011**).

La ecografía ha sido usada desde hace unos años para la evaluación de distintas estructuras reproductivas del macho, tales como el escroto y los genitales internos, (**Pozor, 2005 (a)**). La escala de grises es una herramienta fiable para obtener imágenes del parénquima testicular, la túnica vaginal, el cordón espermático y el epidídimo. Esto permite además tomar mediciones más precisas de las dimensiones testiculares, dato necesario para calcular el volumen testicular, el cual es a su vez un buen predictor de la producción diaria de semen (**Samper y cols, 2007**). La ecografía permite también detectar cambios patológicos en los testículos del semental, como tumores, hidrocele/hematocele, hernia inguinal o torsión del cordón testicular (**Pozor, 2005 (a)**).

El desarrollo de la técnica Doppler y los últimos avances en la misma han proporcionado información muy útil en cuanto al flujo sanguíneo, normal y anormal, de los testículos. La ecografía testicular con modo Doppler fue introducida varios años atrás en la práctica veterinaria. La técnica es muy útil para visualizar la vascularización testicular del semental y obtener medidas objetivas de la perfusión de las gónadas (**Pozor, 2007**).

Un adecuado aporte sanguíneo al testículo es crucial para su función. Cualquier afección del mismo afecta significativamente a la espermatogénesis, al volumen testicular (predictor de la producción seminal) y puede tener un impacto permanente en la producción de semen tanto del testículo afectado como del contralateral. Hay distintos estudios que avalan que una buena perfusión testicular es necesaria para una correcta función. Por ejemplo, la hipoplasia testicular hereditaria del *Bos Indicus* se asocia con disminución del flujo sanguíneo y menor diámetro de la arteria testicular. (**Kay y cols, 1992 (a)**). En otro estudio se llevó a cabo la restricción quirúrgica del crecimiento de la arteria testicular en uno de los dos testículos de toros jóvenes, y se monitorizó el posterior desarrollo de los mismos. Se vio que, en los testículos con restricción, el crecimiento y el diámetro de los túbulos seminíferos fueron significativamente menores que en el contralateral (testículo control). Además, en los testículos operados, la espermatogénesis estuvo totalmente ausente o presente sólo en una pequeña proporción de los túbulos seminíferos (**Kay y cols, 1992 (b)**). En moruecos en los que se indujo isquemia testicular de distintos grados, se generaron cambios morfológicos focales en los testículos, similares a los hallados en hombres con problemas de infertilidad (**Markey y cols, 1995**).

Algunos desórdenes vasculares de los testículos vistos en medicina humana (varicocele, torsión del cordón testicular, daños escrotales) se han encontrado también en los caballos. Mientras que estas situaciones y su tratamiento han sido bastante estudiadas en el hombre (**Tarhan y cols 2000, Kass y cols 2001**), hasta la fecha no lo han sido lo suficiente en el semental. Los daños vasculares del testículo en el caballo suelen resolverse con la castración unilateral del testículo afectado, previniendo así la afección del testículo contralateral. Sería por tanto muy interesante obtener métodos que mejoren la vascularización testicular en el semental, de forma que también podría aumentar el volumen testicular y con él, la producción de semen (**Pozor, 2007**). Esto sería muy ventajoso para la reproducción equina en términos de productividad, pero también para conservar el valor genético de un semental en casos de daño testicular, pudiendo proteger al testículo de un daño permanente y logrando así mantener a un animal como reproductor.

La investigación y el estudio encaminados a obtener dichos métodos, requieren una herramienta que permita valorar la vascularización testicular en el semental, de forma que pueda juzgarse la eficiencia de estas técnicas. Así mismo, esta herramienta sería muy provechosa para visualizar el impacto sobre la perfusión del testículo de distintas patologías, pero también de situaciones fisiológicas que pueden influir sobre la misma y cuyo conocimiento podría acercarnos a nuevas mejoras en el amplio campo de la reproducción equina. Esta herramienta para valorar la vascularización testicular, hoy en día es sin duda el Doppler.

En distintos trabajos (**Pozor y cols 2002, 2004 y 2007**) se ha logrado caracterizar el flujo sanguíneo testicular normal obteniendo valores de referencia para los parámetros que reflejan la perfusión. Así mismo, han usado esta herramienta para ver la influencia sobre la vascularización testicular de distintas condiciones fisiológicas, como la edad, o patológicas (torsión del cordón espermático, hidrocele). Esta técnica es de gran utilidad a la hora de evaluar el grado de deterioro de la perfusión testicular y se ha usado para monitorizar cambios en varias patologías escrotales. Más recientemente, también se ha empleado para detectar los cambios en la perfusión testicular asociados a la estación reproductiva (**Boyd y cols, 2006**), así como para valorar el efecto de distintos tratamientos sobre el flujo sanguíneo del testículo del semental (**Pozor y cols, 2011**), especialmente en casos de torsión del cordón espermático, donde hasta el

momento la principal opción terapéutica es la orquidectomía unilateral del testículo afectado, para proteger de daño vascular al contralateral.

En la revisión bibliográfica se ha encontrado un campo de investigación de interés dentro de la valoración ecográfica de la vascularización testicular del semental: **Pozor (2007)** propone el estudio comparativo de la perfusión testicular entre animales de distinto estatus social. Sin embargo, todavía no se han encontrado datos publicados al respecto, así como tampoco sobre la influencia de la actividad reproductiva sobre el flujo sanguíneo del testículo.

Dada la importancia del Doppler para valorar la perfusión testicular del semental, y dada la falta de datos sobre la influencia de la actividad reproductiva (caballos enteros con o sin posibilidad de cubrir, es decir, con o sin actividad reproductiva) sobre la vascularización testicular y vistas las sugerencias de la bibliografía sobre su estudio, el fin del presente trabajo será el de investigar esta posible influencia, así como sus implicaciones y otros resultados adicionales que pudieran obtenerse y fueran de interés en el ámbito reproductivo del semental equino.

OBJETIVOS

Los objetivos que se plantean en el presente trabajo son:

1. Puesta a punto de la técnica ecográfica para valorar la perfusión del testículo
2. Estudio de la influencia del estatus reproductivo (sementales usados para cubrición y caballos enteros sin acceso a ella) sobre la vascularización testicular.
3. Relacionar patologías testiculares con los valores de perfusión obtenidos por Eco-Doppler

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Anatomía de los órganos genitales del semental

Antes de seguir avanzando en el tema de la valoración vascular del testículo, sería conveniente realizar un recuerdo anatómico del aparato genital masculino y su vascularización, señalando las particularidades de la especie equina.

En primer lugar, el escroto es la bolsa externa que contiene a los testículos y está compuesto por varias capas: la piel, la túnica dartos, túnica albugínea, músculo cremáster y túnica vaginal. Dentro de esta envoltura se encuentran los testículos. Su parénquima está formado por los túbulos seminíferos y tejido intersticial. Los túbulos seminíferos están alineados por un epitelio seminífero que consiste en diferentes tipos de células germinales y de células de Sertoli. Las células de Leydig son el mayor componente del tejido intersticial y son las responsables de la producción de la hormona sexual masculina, la testosterona (**Squires y cols 2011**). Los testículos tienen dos funciones principales: la producción de espermatozoides por parte del epitelio seminífero dentro de los túbulos seminíferos, y la producción de testosterona y de otras hormonas esteroideas, incluidos los estrógenos, por parte de las células de Leydig en el tejido intersticial. Cuando los espermatozoides son liberados desde el epitelio seminífero, son transportados en un medio fluido desde los túbulos seminíferos contorneados a los túbulos seminíferos rectos y de ahí a los túbulos de la *rete testis*, donde se incorpora fluido adicional. Esta suspensión de espermatozoides es movilizadada rápidamente a través de los ductos eferentes hacia la cabeza del epidídimo (**Samper y cols 2007**).

El epidídimo está anatómicamente dividido en tres partes: cabeza, cuerpo y cola. Desde un punto de vista funcional, podemos hablar de tres segmentos: los conductos eferentes y la porción inicial de la cabeza están involucrados en la reabsorción de fluidos y sólidos desde el lumen del ducto. El segmento intermedio está comprimido en la porción mayor de la cabeza y cuerpo de epidídimo, y está involucrado en la maduración espermática. El segmento terminal comprende la cola del epidídimo y conducto deferente proximal y está implicado en el almacenamiento de espermatozoides fértiles. El conducto deferente es una continuación del conducto epididimal y se extiende desde la cola del epidídimo, a través del cordón espermático, hasta la uretra pélvica. En este recorrido atraviesa los anillos inguinales externo e interno junto al resto de estructuras del cordón testicular o espermático, el cual actúa como vía de paso para este conducto, nervios y vasos sanguíneos asociados al testículo. Durante el trayecto de los espermatozoides hacia su salida, el eyaculado recibe el aporte de fluidos de las glándulas sexuales accesorias (**Morel 2007 (b)**). En el caballo encontramos tres tipos: las glándulas vesiculares, la próstata y las glándulas bulbouretrales. El aporte de estas glándulas no es esencial para la fertilidad normal del espermatozoide. La función normal de todas las glándulas accesorias depende de la disponibilidad de testosterona en la sangre periférica. Los conductos deferentes desembocan en la uretra, un largo tubo que va desde la vejiga de la orina hasta el extremo libre del pene, y sirve para la eliminación de orina y semen. Para este fin, está rodeada por el músculo uretral, que se contrae vigorosamente durante la eyaculación. La porción peneana de la uretra está rodeada por el cuerpo esponjoso del pene, que es un área de tejido cavernoso eréctil. El pene es el órgano masculino de copulación y se divide en tres porciones: la raíz, el cuerpo y el glande. Los componentes funcionales primarios del pene son el cuerpo cavernoso, la uretra, el músculo bulboesponjoso y los vasos sanguíneos y nervios asociados (**Senger 2003**). (Imágenes 1 y 2)

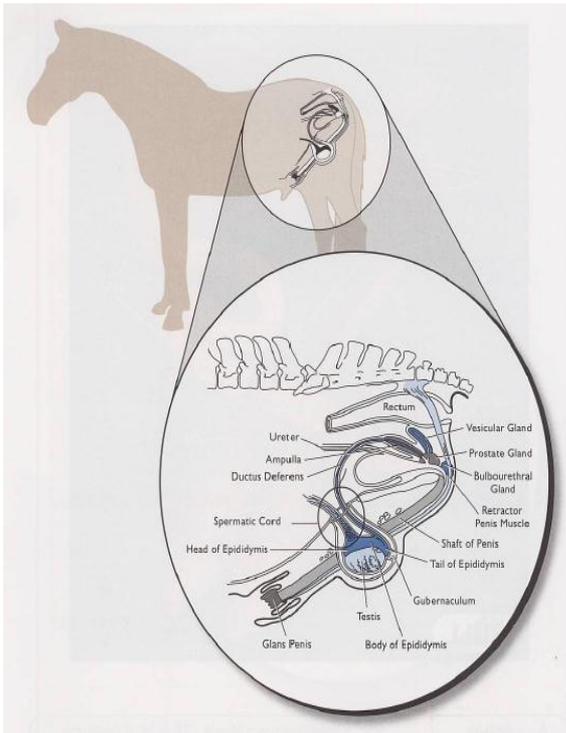


Imagen 1: Tracto reproductivo del caballo. Senger 2003. "Pathways to pregnancy and parturition" Capítulo 3.

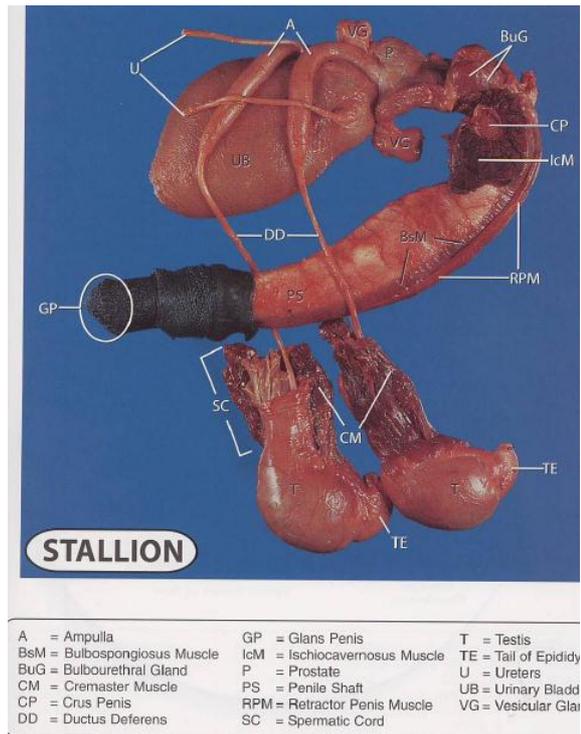


Imagen 2: Tracto reproductivo del caballo. Senger 2003. "Pathways to pregnancy and parturition" Capítulo 3.

Vascularización de los testículos del semental

Éstos reciben su aporte a través del cordón espermático, que incluye la arteria testicular y el plexo pampiniforme. Esta arteria es una rama de la Aorta Abdominal, y tras atravesar el anillo inguinal se hace muy tortuosa y describe múltiples giros (**Imagen 3**), lo que junto a la estructura del plexo venoso, confiere al cordón testicular una imagen ecográfica en "queso suizo" (**Tibary y cols 2011**). La arteria testicular corre caudalmente y hacia la cola del epidídimo antes de dividirse en dos ramas (arterias arcuatas), que penetran la túnica albugínea. Estas ramas tienen un diámetro más grande en la superficie caudal de los testículos y pueden ser visualizadas por ecografía (**Samper y cols 2007 (a)**). En un estudio (**Pozor y cols, 2000**) se evaluó la morfología de la arteria testicular en testículos de matadero. La mayoría de testículos tenían una sola arteria testicular, pero un porcentaje tenían 2 e incluso 3 arterias testiculares, que discurrían por la cara lateral del testículo. La parte más distal de la arteria testicular se denomina zona marginal, y en algunos estudios ecográficos se valora a parte de la zona tortuosa de la arteria a nivel del cordón espermático, puesto que los valores son diferentes en ambos tramos.

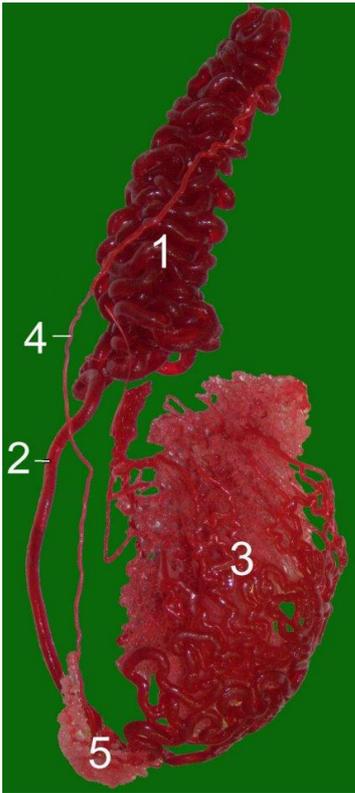


Imagen 3: Molde vascular arterial del testículo. *Veterinary Anatomy 2012*

Por el centro del parénquima testicular, discurre la vena central, que puede verse como un área anecoica en la ecografía. Esta vena se torna más tortuosa y larga en el borde más craneal del testículo, donde emerge para encontrarse con el plexo pampiniforme. Éste forma un entramado alrededor de la arteria testicular con dos funciones: en primer lugar, esta disposición permite el intercambio de calor, de forma que la sangre arterial que entra al testículo se refresca, y la venosa que vuelve al cuerpo se calienta. En segundo lugar, parece que esta estructura anatómica permite mantener una alta concentración de testosterona en el testículo, puesto que la que saldría con la sangre venosa, pasaría de nuevo a la arterial y regresaría al testículo. El plexo pampiniforme acaba formando una sola vena que desemboca en la Vena Cava Caudal (**Morel 2007 (b)**).

Ecografía: Bases y principios

La ecografía es una técnica de diagnóstico por imagen que se basa en los ultrasonidos. El transductor genera una serie de ultrasonidos que son enviados hacia el tejido que se está evaluando. Dicho tejido refleja los ultrasonidos en mayor o menor grado, y el eco de éstos es recibido de nuevo en el transductor. La energía de los ultrasonidos recibidos es transformada en energía eléctrica y es representada como un punto, de mayor o menor brillo según la intensidad del eco, y que se corresponde en la imagen con la estructura anatómica que lo generó (**Reef, 1998 (a)**).

La ecografía es una herramienta de diagnóstico por imagen que viene usándose y actualizándose desde hace muchos años. Fue en **1917** cuando **Langevin y Chilowsky** produjeron el primer generador piezoeléctrico de ultrasonidos. En 1951 se logró obtener imágenes unidimensionales con el nacimiento del ultrasonido compuesto. Poco después, en 1957, aparecieron aparatos que daban imágenes bidimensionales. El modo Doppler a color se desarrolló en 1982 y un año más tarde se comercializaron ya equipos que incluían esta modalidad (**González y Heredia, 2012**). A pesar de que el primer ecógrafo data de 1957, la ecografía no empezó a utilizarse en veterinaria hasta mediados de los años setenta y se empezó a usar de forma habitual a partir de los noventa gracias a la mejora de sus prestaciones y a un precio mucho más asequible (**Reef, 1998 (b)**).

Existen distintos modos ecográficos. El **modo B ó modo Escala de grises**, es uno de los más usados. Proporciona imágenes en dos dimensiones y en blanco y negro. Los puntos que conforman la imagen corresponden a ecos reflejados por el tejido ecografiado y representan su posición y la intensidad con que ha reflejado el ultrasonido, es decir, da información sobre su densidad, estructura, textura, etc. (**Samper y cols, 2007**).

El **modo Doppler** tiene la capacidad de detectar el efecto Doppler de los ultrasonidos al reflejarse sobre los glóbulos rojos circulantes. Recordemos que el efecto Doppler es el cambio en la frecuencia del ultrasonido cuando hay movimiento entre la fuente que lo emite (transductor) y el objeto que lo refleja (glóbulos rojos circulantes). Si los glóbulos rojos se están moviendo hacia el transductor, el ultrasonido es devuelto al transductor con una frecuencia mayor a la que se emitió. En cambio, cuando los glóbulos rojos se mueven alejándose del transductor, el eco regresa con una frecuencia inferior a la emitida. La magnitud de este cambio en las frecuencias depende de la velocidad a la que se muevan los glóbulos rojos, es decir, de la velocidad del flujo sanguíneo. Esto permite obtener valores y representar gráficamente el flujo sanguíneo y constituye el fundamento de la herramienta ecográfica Doppler. Existen distintos tipos de modo Doppler: el *Doppler pulsado* (Pulsed Wave, PW), el *Doppler Continuo* (Continuous Wave), el *Power Doppler* y el *Doppler Color* (Color-flow Doppler ultrasonography o CDU) (**Rantanen y cols, 1998**).

En el Doppler pulsado, se emite un ultrasonido, y no se envía uno nuevo hasta que no regresa el eco del anterior. En cambio, en el Doppler continuo, los ultrasonidos son emitidos y los ecos recibidos de forma continuada. El Power Doppler y el CDU son dos modos de Doppler color. El modo CDU permite valorar la distribución de vasos sanguíneos y la velocidad del flujo en vasos específicos en las distintas etapas del ciclo cardiaco. Si los vasos son muy pequeños y con muy baja velocidad del flujo, son difíciles de detectar con CDU. Para estos casos puede usarse el modo Power Doppler, que es más sensible en los casos de un flujo bajo, pero con él se pierde información de la velocidad del flujo, ya que no hay escala de colores (**Singer y cols, 2006**). Por tanto, CDU es la técnica de elección para evaluar objetivamente el flujo sanguíneo testicular en sementales. Con este modo, de las medidas de la velocidad del flujo pueden obtenerse ondas que representen gráficamente al flujo sanguíneo durante el ciclo cardiaco. En el CDU, el flujo sanguíneo se representa en rojo y azul, según si se acerca o aleja del transductor, respectivamente. Estos colores aparecen en distintos tonos que reflejan las distintas velocidades del flujo de forma gráfica, además de obtenerse los valores numéricos a partir de los cuales pueden calcularse diversos índices que ayudan a la valoración de la perfusión del testículo (**Reef, 1998 (a)**).

Ecografía Testicular

La valoración reproductiva del semental mediante ecografía viene realizándose desde varios años atrás. Los ultrasonidos permiten valorar prácticamente todas las estructuras reproductivas del macho. Distintos autores han trabajado en la evaluación tanto del testículo, epidídimo y cordón espermático (**Love, 1992**), como en el pene (**Love y cols, 1998**) y las glándulas accesorias (**Little y Woods, 1987**).

En el **2005, Pozor (b)** dio un paso más y no se quedó sólo en el examen de las estructuras anatómicas, sino que utilizó el modo ecográfico Escala de grises para valorar la perfusión testicular en sementales normales y con problemas de fertilidad, hallando como alteración más frecuente el varicocele. Esta lesión se visualiza como áreas de ecogenicidad irregular, normalmente en la periferia del cordón testicular, sin poder apreciarse el pulso del flujo sanguíneo.

Doppler Testicular

La ecografía con Escala de grises permite una aproximación a la valoración de la perfusión testicular (**Pozor, 2005**), sin embargo existen técnicas que aportan mucha más

información y permiten un examen mucho más completo y minucioso. Estamos hablando, por supuesto, del Doppler.

A continuación, revisaremos los avances y estudios realizados hasta la actualidad sobre él, ya sea como técnica para ampliar conocimientos sobre la perfusión testicular y su importancia, o como método para valorar la influencia de patologías, condiciones fisiológicas, fármacos, etc. sobre el flujo sanguíneo del testículo.

En 2004, **Pozor y McDonnell** publicaron mediciones del flujo sanguíneo testicular de sementales obtenidas mediante ecografía Doppler. Los parámetros seleccionados para representar la vascularización del testículo fueron similares a los que se utilizan para valorar la perfusión de otros órganos. Estos son:

- **PSV** (Peak Systolic Velocity): Es la velocidad a la que circula la sangre por la arteria durante la sístole cardiaca.

- **EDV** (End Diastolic Velocity): Es la velocidad a la que circula la sangre por la arteria durante la diástole cardiaca.

- **RI** (Resistive Index o Índice de Resistencia) y **PI** (Pulsatility Index o Índice de Pulsatilidad): Se trata de índices calculados a partir de PSV y EDV y que dan información sobre la resistencia y plasticidad tanto de vasos como de tejidos circundantes. Éstos no son los únicos índices que pueden obtenerse, pero sí son los más comúnmente usados por su fácil cálculo y su representatividad.

$$RI = (PSV - EDV) / PSV$$

$$PI = (\text{velocidad máxima} - \text{velocidad mínima}) / \text{velocidad media}$$

Estos cuatro parámetros fueron medidos en dos zonas distintas de la arteria testicular: a nivel del cordón espermático, donde la arteria testicular describe tortuosos giros y circunvoluciones y en la parte marginal de la misma, que discurre por el borde epididimario del testículo. De cada una de las dos zonas, se realizaron tres barridos, tomando así tres mediciones de cada parámetro para obtener después la media. Se ecografiaron ambos testículos de 52 caballos, de los cuales sólo se tuvieron en cuenta 41 para calcular los valores medios normales, ya que en los otros 11 se detectaron alteraciones. Así pues, se obtuvieron los rangos de valores y los valores medios para cuatro parámetros representativos del flujo sanguíneo (PSV, EDV, RI y PI) en dos regiones de la arteria testicular (cordón testicular y parte marginal) (**Tabla 1**).

Tabla 1: Medidas del flujo sanguíneo en las arterias testiculares en 41 caballos. Pozor y McDonnell, 2004. Color Doppler Ultrasound Evaluation of Testicular Blood Flow in Stallions

Blood flow measures of testicular arteries of 41 stallions (n = 82 testes)						
Measures	Convolutad (spermatic cord)			Marginal (marginal artery)		
	Mean	Range	S.E.M.	Mean	Range	S.E.M.
PSV (cm/s)	26.1 ^a	12–51	0.91	22.2 ^b	8–59	1.22
EDV (cm/s)	5.4 ^a	0.3–14.7	0.31	7.9 ^b	3.5–20.0	0.42
RI	0.78	0.56–0.99	0.010	0.63	0.39–0.85	0.012
PI	1.99 ^A	0.96–3.96	0.076	1.15 ^B	0.55–2.29	0.045

S.E.M., standard error of the mean; PSV, peak systolic velocity; EDV, end diastolic velocity; RI, resistive index [RI = (PS – ED)/PS]; PI, – pulsatility index [PI = (maximum velocity – minimum velocity)/mean velocity]. Values with different superscripts differ (a, b: $P < 0.05$; A, B: $P < 0.001$).

Se compararon los valores medios de cada parámetro entre los obtenidos para el tramo arterial del cordón testicular y para la zona marginal, y se vio que PSV, RI y PI son mayores a nivel del cordón y van disminuyendo hacia la parte marginal. Lo contrario sucede con EDV. Es decir, que la diferencia entre PSV y EDV es mayor a nivel del cordón testicular, lo que a su vez lleva a índices de resistencia y pulsatilidad mayores en esta zona. También se comparó la perfusión entre testículo izquierdo y derecho de cada caballo y se concluyó que los valores no eran significativamente distintos.

En este estudio se analizó además la forma de las ondas del flujo sanguíneo, caracterizándose dos patrones principales: “resistente” y “no-resistente”. El primero corresponde a una onda de forma bifásica, es decir, hay mucha diferencia entre la velocidad sistólica (PSV) y la diastólica (EDV) del flujo sanguíneo, por lo que RI es alto. Este patrón es típico de la parte de la arteria testicular a la altura del cordón testicular. En el patrón “no-resistente”, las ondas del flujo son monofásicas (sólo se marca el pico correspondiente a la sístole), por lo que hay menor diferencia entre PSV y EDV y por tanto RI es más bajo. Este patrón corresponde principalmente a la zona marginal de la arteria testicular. Sin embargo, en esta región puede obtenerse una onda bifásica de patrón “resistente”, viéndose ondas “muy resistentes” a nivel del cordón espermático (en ocasiones incluso con ondas negativas que representan la existencia de flujo retrógrado). Esta circunstancia se dio sobre todo en sementales de más de 18 años. Pese a que no se vio asociación entre los parámetros del flujo sanguíneo y la edad, a nivel del cordón espermático se obtuvieron valores mayores para EDV y menores para RI en animales de mayor edad (16-22 años) en comparación con animales de edad media (11-15 años).

En los animales en los que se detectó alteración de los testículos (atrofia, tumores, torsión del cordón testicular, hidrocele) se obtuvieron variaciones en los valores medidos y distintos patrones de ondas (Tabla 2).

Tabla 2: Medidas del flujo sanguíneo en las arterias testiculares en 10 caballos con patologías testiculares. Pozor y McDonnell, 2004. *Color Doppler Ultrasound Evaluation of Testicular Blood Flow in Stallions*

Blood flow measures of testicular arteries of 10 stallions with testicular pathologies				
Measures	Mean (range)			
	Testes with hydrocele (n = 4)	Testes with varicocele (n = 3)	Atrophic testes (n = 2)	180° Torsion of spermatic cord (n = 1)
Convolutad				
PSV (cm/s)	32.6 (24.3–43.3)	31.0 (26.3–37.3)	36.3 (27.0; 45.5)	28.7
EDV (cm/s)	4.35 (2.70–5.30)	5.67 (4.30–7.00)	7.85 (8.00; 9.70)	2.70
RI	0.84 (0.79–0.90)	0.81 (0.77–0.84)	0.76 (0.65; 0.87)	0.90
PI	2.57 (2.16–3.12)	2.05 (1.65–2.34)	1.79 (1.22; 2.35)	2.58
Marginal				
PSV (cm/s)	23.4 (13–32.3)	19.8 (19.0–20.5)	27.2 (23.3; 31.0)	13.0
EDV (cm/s)	5.93 (4.70–8.00)	7.65 (7.00–8.30)	11.35 (9.70; 13.00)	7.00
RI	0.71 (0.57–0.87)	0.62 (0.57–0.67)	0.58 (0.57; 0.59)	0.46
PI	1.53 (0.97–2.30)	1.16 (0.89–1.43)	0.97 (0.96; 0.97)	0.60

PSV, peak systolic velocity; EDV, end diastolic velocity; RI, resistive index [RI = (PS – ED)/PS]; PI, pulsatility index [PI = (maximum velocity – minimum velocity)/mean velocity].

Las conclusiones obtenidas de este estudio fueron las siguientes: El modo Doppler es una herramienta más útil que la escala de grises para visualizar la luz de la arteria testicular, así mismo, el Doppler mejora la obtención de medidas y el cálculo de índices. Sin embargo, al ser la arteria testicular tan tortuosa, obtener buenos cortes es complejo y requiere tiempo, tanto en el cordón testicular como en la parte marginal.

En cuanto a los patrones de ondas, se ha visto que en perros (**Gumbsch y cols, 2002**) y humanos (**Dubinsky y cols, 1998**) predomina el patrón “no-resistente” monofásico, mientras que en caballos hay diferencia entre la parte del cordón, donde suele ser “resistente” bifásico, y la marginal, en la que tiende a ser “no-resistente” monofásico. En los casos en que se observó un patrón “muy resistente” con ondas negativas, podría asociarse en el hombre a haber medido conjuntamente la arteria testicular con las arterias cremastérica y deferente, sin embargo en el caballo estas dos arterias quedan en la periferia del cordón, por lo que es improbable que se visualicen en la parte central junto a la arteria testicular. Quizá el carácter “resistente” de la onda en la zona del cordón testicular se deba a que el testículo está en horizontal y el cordón es muy corto y con una arteria muy tortuosa (**Pozor y McDonnell, 2004**).

De los cuatro parámetros estudiados en el trabajo de **Pozor y McDonnell de 2004**, PSV y EDV miden la velocidad del flujo directamente y son más variables entre individuos. Sin embargo, los parámetros RI y PI son medidas indirectas y son indicadores más sensibles que PSV y EDV, además de aportar más información además de la velocidad sanguínea (resistencia y plasticidad de vasos y tejidos circundantes). Entre RI y PI, el primero es el parámetro más útil en la clínica. Es más sensible que PI y se ve alterado en procesos inflamatorios (disminuye) y por efecto de la edad y de procesos degenerativos (aumenta). De hecho, **Biagiotti y cols.,** sugieren en un estudio publicado en **2002** que los parámetros RI y PSV estarían relacionados con la espermatogénesis y serían mejores indicadores de la producción de semen (Sperm Production Rate Score: SPRS) que la concentración de FSH y el volumen testicular. Por tanto, también podrían usarse en el diagnóstico de distintas causas de dispermia

Algunas relaciones que se hallaron fueron, en cuanto a la edad, menores valores de EDV y aumento de RI en animales viejos, y en cuanto al tamaño testicular, parece ser que cuanto mayor es, menor es RI.

En cuanto a las alteraciones detectadas, en la torsión incompleta del cordón (180°) se vio flujo retrógrado y aumento de RI, lo que sugiere cambios en la función testicular aunque clínicamente no haya síntomas de compromiso vascular. En el varicocele se observó flujo turbulento, y en tumores y traumas testiculares, cambios en el patrón vascular del parénquima.

La conclusión final fue que el Doppler resultó una herramienta útil en este estudio tanto para obtener valores orientativos de los parámetros del flujo sanguíneo, como para detectar variaciones en los mismos en casos de alteraciones testiculares. Sin embargo, debe continuarse con el estudio de esta modalidad ecográfica para valorar la vascularización testicular del semental.

Pozor y S. McDonnell (2002) realizaron un estudio con 3 ponis y 4 caballos de entre 5 y 31 años de edad, en los que valoraron la vascularización testicular mediante ecografía Doppler. Los animales fueron examinados con y sin sedación, empleando para ésta la xilazina.

Se tomaron medidas de la arteria testicular en tres niveles distintos: en el cordón testicular y en la parte marginal (borde epididimario), a nivel de la parte proximal y distal de la arteria. Se midieron la PSV, EDV, RI y PI, haciendo 3 barridos de cada zona y sacando la media para cada zona. Se compararon los valores obtenidos con y sin sedación y entre testículo izquierdo y derecho.

Tanto a nivel del cordón testicular como en las regiones proximal y distal de la parte marginal, se vio tendencia de EDV hacia valores más altos si el animal estaba bajo sedación. PSV, RI y PI fueron similares con y sin sedación. En conclusión, se espera que la sedación no influya en las medidas de flujo.

Se vio disminución de PSV a medida que la arteria testicular discurre de proximal a distal. La comparación entre testículo izquierdo y derecho, y entre ponis y caballos, fue similar.

Las ondas de flujo fueron similares en las distintas porciones de la arteria testicular. El índice de resistencia (RI) resultó ser también en este estudio el índice más útil para valorar la perfusión testicular. Los valores de este parámetro fueron parecidos en las tres localizaciones examinadas, y se vio que RI varía en procesos inflamatorios y por la edad.

Pozor (2007), resalta la importancia de la vascularización para una correcta función de los testículos, justificando así la importancia del Doppler. Así mismo, profundiza en la descripción de esta técnica y resume los resultados y conclusiones obtenidos en su trabajo.

El aporte sanguíneo al testículo es imprescindible para su función. Así pues, un fallo en la vascularización conlleva una afección del volumen testicular y de la espermatogénesis, lo que desemboca en un posible daño permanente de la producción y de esperma de ambos testículos y, por tanto, en problemas de infertilidad. De esto deriva la importancia de ser capaces de valorar la perfusión testicular y de detectar sus alteraciones, y para tal fin resulta de gran utilidad la ecografía.

En humanos las alteraciones testiculares (varicocele, torsión del cordón testicular, daños en escroto) requieren un diagnóstico correcto y una rápida intervención para lograr un buen pronóstico, por lo que se han realizado más estudios de esta técnica y existen más opciones terapéuticas. Sin embargo, en el caballo las alteraciones vasculares testiculares (por ejemplo, la torsión del cordón) han de resolverse por orquidectomía unilateral, siendo necesario eliminar el testículo afectado para prevenir un daño permanente en el contralateral. Por ello, la aplicación de la técnica ecográfica a sementales para valorar la perfusión testicular, es el primer paso para encontrar métodos que mejoren la vascularización del testículo y conseguir así aumentar el volumen testicular, la producción de semen, y proteger el tejido testicular de daño permanente cuando se presentan problemas de vascularización.

En el mismo trabajo se señala que la evaluación de la vascularización testicular en el semental debe comenzar por la palpación del escroto y el cordón testicular, de forma previa al examen ecográfico. Es conveniente preparar al animal para este examen mediante algún método de contención (potro de contención, acial, etc.) y, si es necesario, se recomienda utilizar tranquilizantes, evitando las fenotiazinas por posibles problemas de priapismo. Es aconsejable aplicar una cantidad generosa de gel de ecografía en el escroto previo al examen. Éste debe comenzar empleando el modo Escala de Grises, para visualizar el parénquima y localizar los vasos, antes de pasar al modo Doppler para realizar mediciones en los mismos.

Los parámetros que sugiere medir, además de los ya comentados (PSV, EDV, RI y PI), son los siguientes (**Tablas 3 y 4**)

Tabla 3: Flujo sanguíneo total de la arteria (TABF = total arteria blood flow). Pozor y McDonnell, 2007. *Evaluation of Testicular Vasculature in Stallions*

$$\text{TABF} = \text{TAMV} \times \text{A} \quad (\text{ml/min})$$

$$\text{TAMV} = \text{Time-Averaged Maximum Velocity} = \text{TAMF} \times \cos \alpha$$

TAMF = Time-Averaged Maximum Frequency Shift = área entre la onda y la línea base en un ciclo cardíaco.

α = Ángulo entre los ultrasonidos y el flujo sanguíneo

$$\text{A} = \text{Área de sección de la arteria} = \pi \times r^2$$

r = radio de la arteria (diámetro / 2) (Medida tomada por ecografía)

Tabla 4: Ratio del flujo sanguíneo total de la arteria (TABFR = total arteria blood flow rate). Pozor y McDonnell, 2007. *Evaluation of Testicular Vasculature in Stallions*

$$\text{TABFR} = \text{TABF} / \text{V} \times 100 \quad (\text{ml/min/100 g})$$

TABF = Total Arteria Blood Flow

$$\text{V} = \text{Volumen Total del Testículo} = (4/3 \pi) \times (\text{W}/2) \times (\text{H}/2) \times (\text{L}/2)$$

W (width) = anchura

H (height) = altura

L (length) = longitud

* Medidas tomadas por ecografía del testículo completo

TABFR se considera la mejor medida de la perfusión testicular, y los cambios en su valor son un posible signo temprano de patología por problemas de vascularización).

También recuerda la importancia de los patrones de las ondas del flujo sanguíneo, hablando de forma bifásica en las zonas proximales de la arteria testicular (cordón testicular) y monofásica en la zona marginal de dicha arteria.

De nuevo recalca que RI es el índice más sensibles para distinguir anomalías en el flujo sanguíneo, pues mientras que PSV y EDV depende de factores como la edad, el peso, la frecuencia cardiaca, etc., RI y PI son independientes de estos factores, por lo que cambios significativos en sus valores nos ayudan a detectar patologías vasculares: RI disminuye ante cambios inflamatorios y aumenta en procesos degenerativos.

Además de su utilidad para el diagnóstico de alteraciones patológicas de la vascularización testicular, el Doppler también ha sido usado para valorar la influencia de distintos factores, ya sean fisiológicos u hormonales. **Boyd y cols.**, en el **2006**, estudian el efecto estacional sobre la perfusión testicular en 5 sementales. El efecto estacional es uno de los factores más importantes que afectan a la función testicular y a la producción de semen, y produce cambios relacionados con la fluctuación de hormonas reproductivas en el torrente sanguíneo y con el tamaño testicular. Una restricción del aporte sanguíneo al testículo produce una reducción significativa del volumen testicular, lo que sugiere que podría haber cambios en la vascularización implicados en las variaciones estacionales del volumen testicular y la producción de semen.

Ambos testículos de cada semental fueron examinados mediante ecografía Doppler. Concretamente, las mediciones del flujo sanguíneo fueron tomadas en la parte marginal de la arteria testicular, y los parámetros elegidos fueron PSV, EDV, RI, PI y diámetro arterial máximo, para el cálculo de TAMV, TABF y TABFR. Además, se tomaron muestras de sangre para medir concentraciones hormonales. Tanto este análisis como el examen ecográfico se llevó a cabo durante las cuatro estaciones del año, para poder comparar entre ellas.

Se encontraron diferencias entre las distintas estaciones para los parámetros PSV, EDV, diámetro arterial, TABF, TABFR y concentraciones de testosterona y estradiol. Tanto la perfusión testicular como las hormonas reproductivas estuvieron aumentadas durante los meses de primavera, en comparación con los meses de invierno. Además se encontró correlación positiva entre la concentración de testosterona sérica y el diámetro arterial, TABF y TABFR. También se vio relación entre la concentración de estradiol y los parámetros EDV, PI, RI y la edad. Estudios previos manifestaron que la producción de semen aumenta durante la temporada reproductiva, los autores sugieren, por tanto, que sería interesante investigar si al inducir médicamente un incremento de la vascularización testicular, se podría lograr aumentar la producción de semen.

Pozor y cols, en el 2006 observaron que el tratamiento con hCG protege el tejido testicular del daño por isquemia-reperfusión en el testículo contralateral en el caso de una torsión unilateral del cordón testicular y mejoraba el flujo sanguíneo en testículos normales. El estudio se realizó en 4 sementales maduros, recibiendo cada uno una dosis diferente de hCG (500, 1000, 2500 y 6000 U.I. respectivamente). Se realizó un examen ecográfico Doppler de la perfusión testicular antes y varios tiempos después de la administración de la hCG. Los parámetros del flujo sanguíneo medidos fueron PSV, EDV, RI, PI, TAMV, TABF y TABFR. Así mismo, se determinó la concentración de testosterona sanguínea para los mismos tiempos.

Se detectó un aumento en la perfusión testicular (aumento de TAMV y TABFR) una hora tras la administración de la dosis más alta de hCG (6000 U.I.) que disminuyó a las 72 horas. El resto de tratamientos no generó ningún cambio en los valores. La concentración de testosterona aumentó para todas las dosis de hCG, siendo mayor para la dosis de 6000 U.I. Así pues, se estableció una correlación significativa entre la concentración de testosterona y los parámetros

PSV, EDV, TAMV, TABF y TABFR. Estos resultados sugieren que el tratamiento con una dosis única de 6000 U.I. de hCG puede ayudar a mejorar la perfusión testicular en el caballo. Sin embargo, el efecto de este tratamiento en el caso de testículos dañados todavía necesita ser más profundamente estudiado.

Posteriormente, en **2008, Bollwein y cols** publicaron un trabajo similar sin embargo, el objetivo principal de este estudio, más que ver el efecto de la hCG, fue el de investigar por primera vez la posible asociación entre concentraciones sanguíneas de hormonas reproductivas (testosterona y estrógenos) y la vascularización testicular del caballo. Se administraron 5000 U.I. de hCG a 8 sementales maduros y se emplearon 4 como control. Se tomaron mediciones del flujo sanguíneo mediante ecografía Doppler (TABF y PI), y se analizaron las concentraciones plasmáticas totales de testosterona y estrógenos. Tanto las medidas del flujo sanguíneo como las concentraciones hormonales se midieron antes y en varios tiempos después de administración de hCG. Se concluyó que, como mostraban otros estudios, el aumento en la perfusión testicular tras el tratamiento con hCG va asociado con un aumento en la concentración de testosterona. Sin embargo, el pico máximo de concentración de esta hormona fue más bajo que en otros estudios, aunque también se empleó una dosis menor de hCG. El incremento que se vio en la vascularización testicular fue de corta duración en comparación con el de testosterona, lo que contradice otros estudios, como el de **Damber y Bergh (1998)** en el que se concede a la testosterona un papel regulador sobre el flujo sanguíneo testicular. Como los estrógenos tienen un fuerte efecto vasodilatador, el estudio también buscaba una posible asociación entre cambios en su concentración y en el flujo sanguíneo testicular. De hecho, el patrón de variaciones en la concentración de estrógenos es similar al del flujo sanguíneo, lo que sugiere que esta hormona podría tener un papel en el control de la perfusión del testículo.

Pinggera y cols. (2007) investigaron el valor del índice de resistencia (RI) de las arterias intratesticulares e intentaron establecer criterios diagnósticos para el recuento normal y patológico del semen, utilizando como base la ecografía Doppler testicular. Ésta se aplicó en pacientes humanos de distintas edades, con recuentos de espermatozoides normales y por debajo de lo normal. Además de RI, se midió el volumen testicular también por ecografía y se realizaron perfiles hormonales para testosterona, LH, FSH y prolactina. Los pacientes con un recuento espermático normal dieron un valor medio de RI de 0.54 y un volumen testicular medio de 18,7 ml. En cambio, los pacientes con oligospermia dieron un RI de 0.68 y un volumen testicular de 16.8 ml. Estas diferencias son significativas para el RI, pero no para el volumen testicular, por lo que el primero sería un mejor predictor de la espermatogénesis. Estos datos sugieren que un RI de más de 0.6 podría señalar un recuento espermático patológico, por lo que este parámetro tomado mediante ecografía Doppler parece ser un indicador fiable de uso rutinario en la clínica para identificar pacientes subfértiles.

Como ya se ha comentado, mejorar la vascularización testicular sería un camino hacia la mejora de la producción de semen en el semental. Bajo esta premisa, **Pozor y cols (2011)** estudiaron el efecto de la pentoxifilina, ampliamente estudiada en medicina humana, viéndose mejora de la microcirculación de los órganos, vasodilatación, efecto sobre la deformabilidad de los eritrocitos y la viscosidad de la sangre así como mejora de la función testicular, ya que este fármaco mejora la vascularización del testículo, la integridad del ADN y el equilibrio del estrés oxidativo. El estudio se realizó sobre tres grupos de animales, actuando uno como control y recibiendo las otras dos dosis orales distintas de pentoxifilina. Se tomaron mediciones ecográficas de PSV, EDV, RI, PI y diámetro de arteria testicular, antes, durante y después del tratamiento. Se vio una tendencia a incrementar de TABFR en todos los tratados con respecto a los controles, así como una disminución de RI y PI. TABF permaneció similar. Tanto en controles como en tratados hubo una disminución del diámetro arterial. RI y PI tuvieron una correlación negativa con EDV en tratados y controles. Entre RI y PSV se vio correlación positiva en los

tratados. TAMV y los índices PI y RI tuvieron correlaciones negativas en los sementales tratados con pentoxifilina. También se realizaron análisis del semen, viéndose una disminución del número de espermatozoides en todos los grupos y una tendencia a un mayor número de espermatozoides morfológicamente normales en los animales tratados. Estos cambios no se consideraron significativos, por lo que no se estableció correlación entre la perfusión testicular y el número de espermatozoides, pero sí una pequeña correlación entre el diámetro de la arteria testicular y el porcentaje de gametos morfológicamente normales. En conclusión, la pentoxifilina hace disminuir la resistencia de la arteria testicular y retrasa el descenso en la perfusión testicular que sucede al finalizar la estación reproductiva. Los autores sugieren que quizá dosis más altas del fármaco podrían mantener más tiempo este efecto.

Pozor (2007), sugiere un nuevo campo de investigación en el que ya se encuentran trabajando: evaluar mediante ecografía Doppler, el efecto del estatus social del caballo sobre la vascularización testicular. Hasta el momento han visto que los machos dominantes tienen índices de flujo sanguíneo con valores más altos, con respecto a los machos subordinados, pero no existen datos publicados. Este trabajo sería una ampliación del publicado en **1995** por **McDonnell y Murray**. En él, se comparan las concentraciones de testosterona y las pautas de comportamiento entre animales de distinto estatus social. Los caballos, cuando se reproducen en libertad, forman una unidad social típica, denominada harén, que incluye un semental reproductivamente maduro y varias yeguas con sus potrillos. Este macho es el dominante y el único que cubre a las yeguas. Los machos no-dominantes, subordinados o “solteros”, forman un grupo (“grupo de solteros”) y en caso de que la posición de macho dominante del harén quede vacante, uno de ellos pasará a ocuparla.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

Material Animal

Para el estudio se han utilizado 15 caballos enteros, con una edad comprendida entre 3 y 18 años de edad, de distintas razas (principalmente Pura Raza Español o PRE) y con distinto estatus reproductivo.

Algunos de los caballos examinados (8) fueron pacientes remitidos al Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza (HV-UZ). Tres (3) de ellos fueron atendidos con motivo de problemas reproductivos, los cinco (5) restantes acudieron por distintos motivos no relacionados con el aparato reproductor pero se aprovechó para realizar su examen. El resto de caballos (7) pertenecían a distintas yeguas y centros hípicas del área de Zaragoza (España) y el examen ecográfico testicular se realizó en dichos lugares con un ecógrafo portátil.

Estos 15 caballos se distribuyeron en 3 grupos (**Tablas 5 y 6**):

GRUPO A: Seis (6) caballos enteros que, pese a no estar castrados, no tenían acceso a actividad reproductiva puesto que su uso era meramente para ocio y deporte.

GRUPO B: Seis (6) sementales dedicados a la reproducción, es decir, que estaban cubriendo yeguas en el momento del estudio.

GRUPO ALTERACIONES: Tres (3) animales que no se han incluido en ninguno de estos los dos grupos anteriores por presentar un historial de alteraciones testiculares. Uno de los caballos era monórquido a consecuencia de una hernia inguinal que requirió orquidectomía unilateral dos años atrás, presentando hidrocele en el testículo que conservaba. Otro de los caballos era criptórquido unilateral inguinal, es decir, sólo tenía descendido el testículo derecho, mientras que el izquierdo se encontraba en el trayecto inguinal. El tercer caballo sufrió un trauma escrotal, con desgarramiento del mismo y exposición del testículo, que fue tratado y suturado. Los tres casos fueron atendidos en el HV-UZ y la ecografía testicular se utilizó como herramienta para la valoración de sus patologías. Ya que se obtuvieron valores con Doppler para estos tres casos, también serán comentados en los resultados, pero no fueron incluidos en ninguno de los grupos para comparar la influencia del estatus reproductivo, puesto que podrían alterar los resultados y conclusiones (**Tabla 6**).

Previo al estudio, se obtuvo el consentimiento de los propietarios de todos los caballos para realizar el examen. Debido a que el procedimiento realizado no fue en ningún caso invasivo ni cruento, no fue necesaria la aprobación de la Comisión Ética para llevar a cabo la investigación.

Para evitar la influencia del efecto estacional sobre la vascularización testicular (**Boyd y cols., 2006**) todos los caballos fueron examinados durante la estación reproductiva, que en nuestra latitud corresponde a los meses de marzo a junio.

Tabla 5: Relación de caballos incluidos en los GRUPOS A y B

GRUPO A (Animales sin actividad reproductiva)	GRUPO B (Animales con actividad reproductiva)
- Caballo 1A: Árabe. 6 años.	- Caballo 1B: PRE. 13 años.
- Caballo 2A: Cruzado. 4 años.	- Caballo 2B: PRE. 5 años.
- Caballo 3A: Cruzado. 3 años.	- Caballo 3B: PRE. 7 años.
- Caballo 4A: PRE. 7 años.	- Caballo 4B: PRE. 18 años.
- Caballo 5A: PRE. 10 años.	- Caballo 5B: PRE. 15 años.
- Caballo 6A: PRE. 7 años.	- Caballo 6B: PSI. 11 años.

Tabla 6: Relación de caballos excluidos de los GRUPOS A y B por presentar alteraciones testiculares

CABALLOS CON ALTERACIONES
Monórquido con hidrocele: PRE. 5 años
Criptórquido unilateral: Bretón. 5 años
Herida en escroto: Lusitano. 6 años

Material Inventariable

Para la realización del presente trabajo fueron necesarios dos equipos ecográficos de las siguientes características. Ambos contaban, además del modo 2D o Escala de grises, con modo Doppler Color y Pulsado para la toma de mediciones de la perfusión testicular. El equipo usado con los caballos remitidos al HV-UZ era un modelo HDI-3500 de la marca ATL (**Imagen 5**) y se empleó una sonda lineal L12-5 de 10 MHz (**Imagen 6**). El ecógrafo usado para examinar a los caballos a nivel de campo fue un equipo portátil del modelo Logic E de General Electric (**Imagen 4**) y se utilizó de nuevo una sonda lineal, de 8 a 12 MHz.



Imagen 4: Ecógrafo portátil modelo Logic E de General Electric.



Imagen 5: Ecógrafo fijo modelo HDI-3000 de ATL.
<http://www.aplmed.com.ar>



Imagen 6: Sonda ecográfica lineal L12-5 del ecógrafo HDI-3000 de ATL

MÉTODO

Técnica ecográfica



Imagen 7: Potro de contención para realizar el examen ecoográfico testicular

Para realizar las ecografías, el primer paso fue la preparación del animal. Unos 10 minutos antes de comenzar el examen, se aplicó una generosa cantidad de gel ecográfico en el escroto, de forma que tuviera tiempo para absorberse y se obtuviera una mejor imagen (**Imagen 8**). Otra medida importante fue la contención de los animales. Se evitó la sedación en todos los casos, pese a que estudios sugieren que no afecta significativamente a la vascularización (**Pozor y McDonnell, 2002**). El método de contención elegido, ya que en todos los casos estuvo disponible, fue el potro de contención (**Imagen 7**). En algunos casos en que el caballo era más inquieto, se empleó el acial o torcedor. Un ambiente tranquilo y un animal relajado fueron claves para trabajar con seguridad y comodidad. En general, los animales colaboraron sin dar problemas.

Una vez estacionado el animal, y antes de comenzar con la ecografía, se realizaba una palpación de los testículos con un doble objetivo: en primer lugar, en busca de alteraciones evidentes como adherencias, cicatrices, aumento de temperatura, falta de descenso de uno de los testículos, etc. En segundo lugar, con esta acción lográbamos desensibilizar al animal, de forma que toleraba mejor el examen.



Imagen 8: Aplicación de gel de ecografía en el testículo para mejorar la obtención de imágenes ecográficas



Imagen 9: Colocación del ecógrafo a la parte posterior del animal para realizar el examen ecoográfico testicular

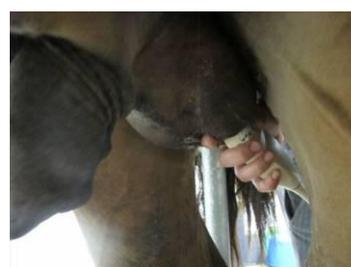


Imagen 10: Colocación de la sonda ecográfica lineal para iniciar el examen ecoográfico testicular desde el polo caudal del testículo



Imagen 11: Colocación del operador, a la parte posterior del animal y junto al ecógrafo, para realizar el examen ecográfico testicular y poder manejar simultáneamente la sonda y el ecógrafo

Para comenzar con la ecografía, se accedía a los testículos desde la parte trasera del caballo (**Imágenes 9 y 11**). Primeramente, se realizaba una valoración inicial con el modo 2D (2 dimensiones o Escala de grises) (**Imagen 12**) de cada testículo, comenzando por el polo caudal del testículo (**Imagen 10**), y avanzando por el borde ventral hasta el polo craneal, para barrer después la cara lateral del escroto. Con este barrido de todo el testículo se pretendía hacer una valoración general.



Imagen 12: Ecografía testicular Modo Escala de grises

Una vez hecho este examen previo y haciéndonos una idea de las estructuras, pasamos a usar el modo Doppler Color (**CDU**), que permite localizar vasos apropiados para tomar las medidas. La sonda ecográfica se colocaba en el polo caudal y borde ventral, para visualizar desde aquí el borde epididimario.

Pese a que en otros trabajos de ecografía testicular en caballos se tomaban las mediciones a nivel de la arteria testicular marginal (**Pozor y McDonnell 2002 y 2004, Pozor 2007**), las pequeñas arterias intratesticulares fueron de elección en nuestro estudio para tomar las medidas puesto que cuanto más integrado está un vaso en el tejido, mejor representa su verdadera perfusión (**Pinggera y cols, 2007**). Por ello, estas ramas son más apropiadas que la gran arteria testicular a nivel del cordón, donde su flujo todavía es muy similar al de la Aorta Abdominal y por tanto no refleja tan bien el estado del testículo (**P. Gómez Ochoa, Comunicación Personal, 2012**). Gracias al CDU, se localizaban los vasos apropiados, identificando que tuvieran pulso y un diámetro suficiente para poder ser medidos (**Imagen 13**).

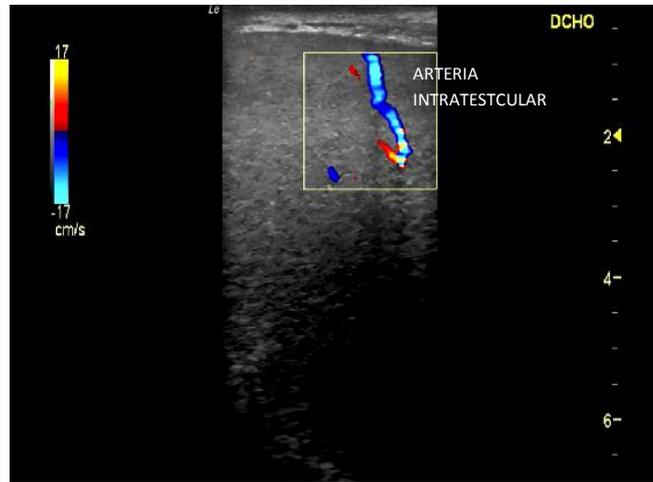


Imagen 13: Ecografía testicular Modo Doppler Color

Cuando se encontraba uno de estos vasos, se cambiaba al modo ecográfico Doppler Pulsado y colocando el cursor sobre la arteria de interés, se procedía a medir la velocidad de su flujo. Éste era representado en forma de onda, siguiendo los cambios en la velocidad durante la sístole y diástole del ciclo cardiaco (Imagen 14).

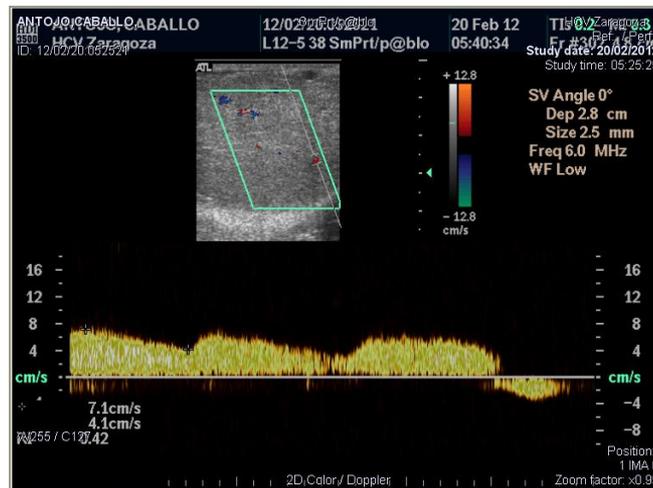


Imagen 14: Ecografía testicular Modo Doppler Pulsado

Medición de los parámetros Doppler

Los parámetros de Doppler seleccionados para este estudio, basándonos en las conclusiones de los principales trabajos publicados sobre el tema (Pozor, 2002 y 2004), fueron la velocidad sistólica (PSV), la velocidad diastólica (EDV), el índice de resistencia (RI = (PSV-EDV)/PSV) y el índice de pulsatilidad (PI= (velocidad máxima – velocidad mínima)/velocidad media).

Las mediciones de estos parámetros se obtuvieron a nivel de las arterias intratesticulares. En cada testículo se seleccionaron 3 arterias distintas, con un diámetro suficiente que permitiera la lectura de su flujo. De cada arteria se obtuvo la onda de su flujo, y de esta onda se tomaron 3 valores de PSV y 3 de EDV a partir de los que se obtuvieron 3 valores de RI y 3 de PI. Es decir, en total se obtuvieron por testículo 9 valores (3 x 3) de cada parámetro (PSV, EDV, RI y PI), que se emplearon para calcular valores medios. De este modo, se trató de obtener, para cada caballo, 18 valores de cada uno de los 4 parámetros, pero en algunos casos

no fue posible conseguirlos todos, como en el caso del monórquido (un solo testículo) o por cuestiones de comportamiento del animal.

La configuración del ecógrafo permitía medir la velocidad en la sístole (PSV) y en la diástole (EDV) colocando el cursor en el punto máximo y mínimo de cada ciclo. Automáticamente se calculaba en índice de resistencia (RI). Estos valores eran guardados para el posterior cálculo del índice de pulsatilidad (PI) (**Imagen 15**).

Con la ayuda de una hoja de Excel se calcularon los valores medios de los 4 parámetros para obtener en primer lugar la media de cada arteria, después la media de cada testículo, a continuación de cada caballo, y por último de cada grupo (A y B).

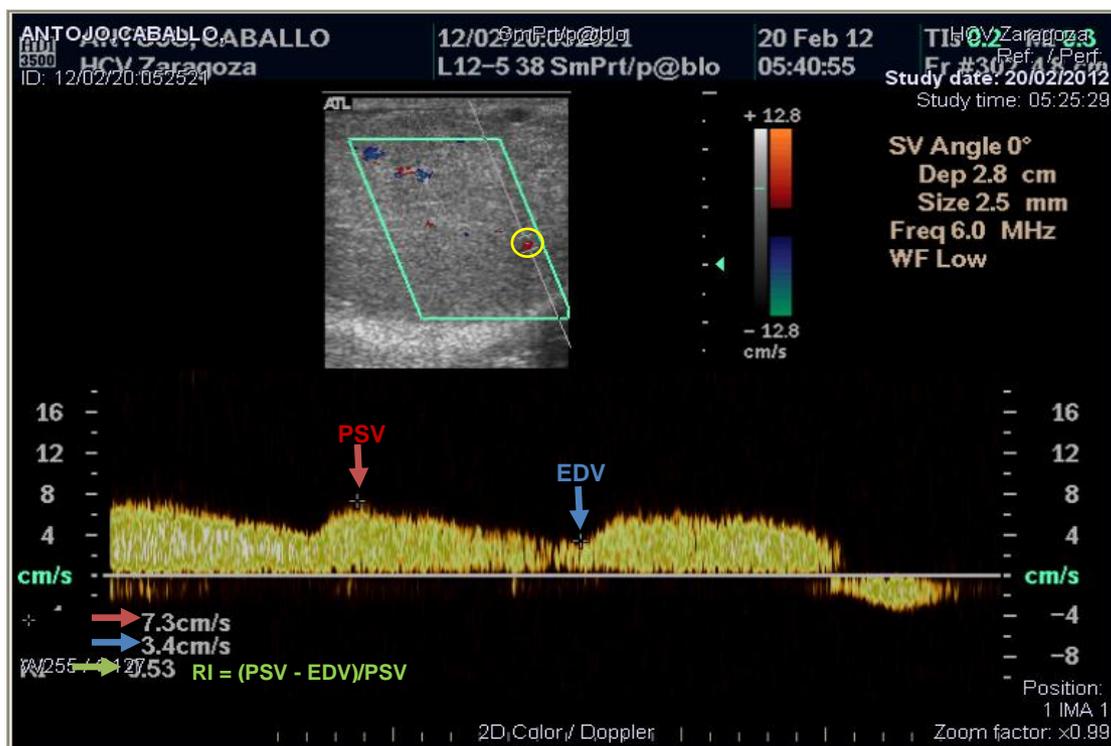
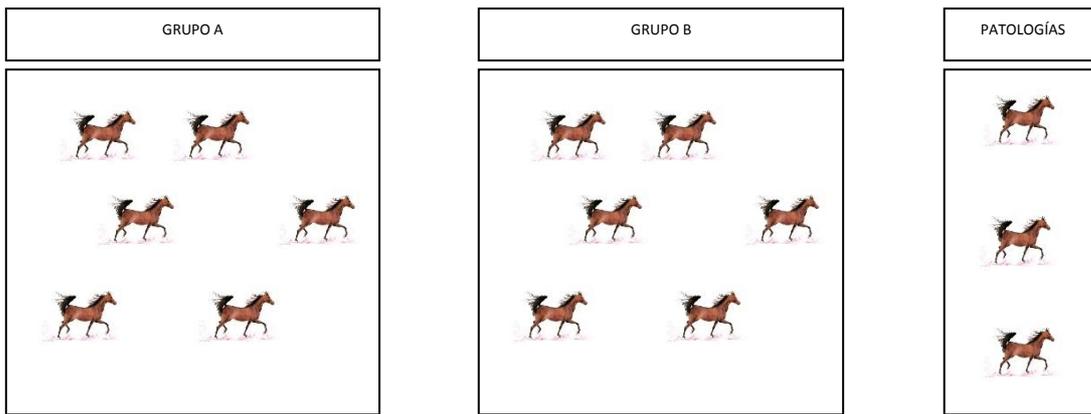


Imagen 15: Ecografía testicular Modo Doppler Pulsado: El cursor (círculo amarillo) se coloca sobre la arteria a medir. El flujo sanguíneo es representado en forma de onda, donde el punto más alto corresponde a PSV y el más bajo a EDV. El ecógrafo proporciona el valor numérico a estos parámetros (flecha roja y flecha azul) y a partir de ellos calcula RI (flecha verde).

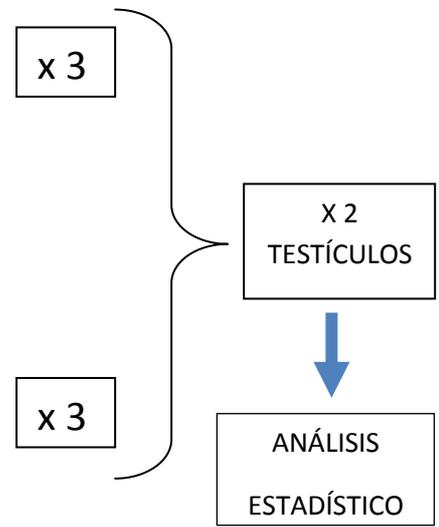
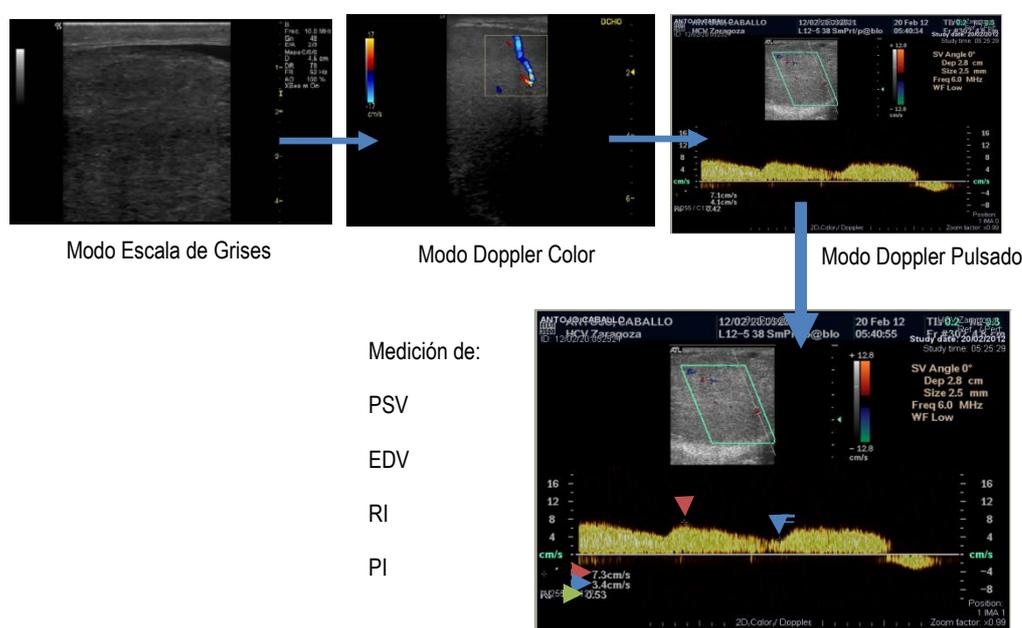
Análisis estadístico

Se ha empleado el programa de análisis estadístico SPSS para Windows con licencia de la Universidad de Zaragoza. Se han llevado a cabo pruebas no paramétricas para una distribución normal de las variables. Las pruebas han sido la de Kolmogorov-Smirnov y la t de Student.

DISEÑO EXPERIMENTAL



PREPARACIÓN DEL CABALLO



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación van a exponerse y discutir los resultados que se han obtenido para alcanzar los objetivos propuestos.

OBJETIVO 1: Puesta a punto de la técnica ecográfica de valoración la perfusión testicular

Los resultados obtenidos de la puesta a punto en nuestro Centro de la técnica ecográfica han sido el aprendizaje de los conceptos de la ecografía y del Doppler, así como del uso del mismo, el manejo de los aparatos (ecógrafos) y su aplicación a la valoración vascular del testículo del caballo.

Se ha conseguido obtener imágenes diagnósticas del parénquima testicular normal que debería de tener una ecogenicidad media y una textura homogénea, hallándose líneas onduladas hiperecoicas en los animales con fibrosis. Una pequeña cantidad de líquido entre la túnica vaginal y el testículo se podía considerar normal. Con el modo 2D o Escala de Grises, las estructuras vasculares también eran visualizadas en forma de círculos y líneas anecoicas, especialmente hacia el polo caudal del testículo y la zona del cordón espermático, donde podían visualizarse las circunvoluciones de la arteria testicular.

Se ha podido utilizar en todos los casos el modo Doppler Color permitiendo la visualización del flujo sanguíneo dentro de dichos vasos, y pudiendo diferenciarse venas de arterias, siendo capaces de elegir las más apropiadas para tomar las mediciones con el modo Doppler Pulsado. En todos los casos se pudieron medir los parámetros propuestos (PSV, EDV) y valorar adecuadamente la forma de las ondas del flujo sanguíneo.

OBJETIVO 2: Estudio de la influencia del estatus reproductivo (sementales usados para cubrición y caballos enteros sin acceso a ella) sobre la vascularización testicular

El segundo objetivo consistía en estudiar las diferencias en la perfusión testicular entre animales con distinto estatus reproductivo. La información completa y la totalidad de los datos obtenidos de cada caballo se adjuntan en el **Anexo 1**. En este apartado trabajaremos sólo con las medias de los parámetros, tanto de cada testículo como de cada grupo, así como con los datos obtenidos en el análisis estadístico.

La distribución de las cuatro variables estudiadas dentro de cada grupo y cada testículo (PSV, EDV, RI y PI) sigue una distribución normal, por lo que se han utilizado pruebas paramétricas para el análisis estadístico.

Comenzaremos comentando los resultados del GRUPO A (caballos enteros sin actividad reproductiva) y los desglosaremos para cada parámetro.

En el análisis estratificado no se observan diferencias estadísticamente significativas entre el testículo izquierdo y el derecho en ninguna de las variables estudiadas (PSV, EDV, RI, PI) en el GRUPO A. Consideramos que la diferencia es significativa cuando $p < 0,005$. (**Tabla 7**).

	PSV IZDO (cm/s)	PSV DCHO (cm/s)	EDV IZDO (cm/s)	EDV DCHO (cm/s)	RI IZDO	RI DCHO	PI IZDO	PI DCHO
1A	6,53	6,93	3,57	4,04	0,43	0,43	0,59	0,56
2A	8,58	7,12	4,64	4,01	0,47	0,43	0,60	0,43
3A	10,44	7,79	6,27	4,37	0,39	0,44	0,50	0,57
4A	5,41	6,74	4,03	4,28	0,32	0,37	0,30	0,44
5A	7,64	10,85	2,39	3,52	0,69	0,67	1,05	1,01
6A	6,91	6,10	3,50	2,80	0,49	0,54	0,65	0,75
Media ± Desviación Estándar	7,58±1,75	7,58±1,68	4,06±1,30	3,83±0,58	0,46±0,12	0,48±0,10	0,61±0,24	0,64±0,20
Significación(p)	0,999	0,711	0,991	0,724	0,814	0,579	0,747	0,548

Tabla 7: Valores medios de PSV, EDV, RI y PI de los testículos izquierdo y derecho, individuales y grupales. Desviación típica y significación ($p < 0.005$). GRUPO A

En el GRUPO B (sementales con actividad reproductiva) en el análisis estratificado tampoco se observan diferencias significativas entre el testículo izquierdo y el derecho en ninguna de las variables (PSV, EDV, RI, PI). Consideramos que la diferencia es significativa cuando $p < 0,005$. (**Tabla 8**).

	PSV IZDO (cm/s)	PSV DCHO (cm/s)	EDV IZDO (cm/s)	EDV DCHO (cm/s)	RI IZDO	RI DCHO	PI IZDO	PI DCHO
1B	8,40	9,19	4,64	4,33	0,48	0,54	0,68	0,75
2B	12,49	18,16	5,79	8,39	0,50	0,54	0,77	0,75
3B	8,69	8,35	3,25	3,73	0,62	0,55	0,92	0,77
4B	8,29	9,31	4,88	4,01	0,40	0,57	0,51	0,80
5B	7,62	10,43	2,63	3,83	0,46	0,63	0,59	0,92
6B	8,33	8,77	3,74	4,57	0,51	0,48	0,77	0,64
Media ± Desviación Estándar	8,50±2,44	10,72±3,7	4,10±1,14	4,81±1,78	0,49±0,07	0,55±0,05	0,70±0,15	0,77±0,09
Significaci ón (p)	0,643	0,410	1,000	0,330	0,957	0,884	0,989	0,883

Tabla 8: Valores medios de PSV, EDV, RI y PI de los testículos izquierdo y derecho, individuales y grupales. Desviación típica y significación ($p < 0.005$). GRUPO B

Al calcular la correlación entre los valores de PSV, EDV, RI y PI entre ambos testículos de todos los caballos de los grupos A y B, se encuentran correlaciones significativas ($p < 0,005$), aunque la correlación no es demasiado alta (**Tabla 9**). En cursiva se resaltan los valores de *p* que indican que hay correlación significativa ($p < 0,005$). Esto concuerda con lo publicado en otros estudios como el de **Pozor y McDonnell de 2002**.

	N (tamaño muestra)	Correlación	Significación (p)
PSV (cm/s) IZDO Y DCHO	12	0,593	0,042
EDV (cm/s) IZDO Y DCHO	12	0,577	0,049
RI IZDO Y DCHO	12	0,670	0,017
PI IZDO Y DCHO	12	0,669	0,017

Tabla 9: Correlación entre PSV, EDV, RI y PI del testículo izquierdo, con PSV, EDV, RI y PI del testículo derecho, y significación de la correlación ($p < 0,005$). Estudio global sin diferenciar en grupos A y B (N=12).

Seguidamente, pasaremos a hablar de los resultados por grupos.

El parámetro PSV tuvo una media y un rango mayores en el GRUPO B. Dentro del GRUPO A, el menor valor de PSV fue de 5,41 y correspondió al caballo 4A. El mayor valor fue de 10,85, obtenido el caballo 5 A, que era el de más edad. Para el GRUPO B, el valor PSV más bajo fue de 7,62 y el más alto de 18,16. Estos valores corresponden a los caballos 5B y 2B respectivamente. 2B era el semental del grupo que más yeguas cubría. No se encontró diferencia significativa entre PSV del GRUPO A y PSV del GRUPO B.

El parámetro EDV tuvo una media y un rango mayores en el GRUPO B. Dentro del GRUPO A, el menor valor de EDV fue de 2,39 y correspondió al caballo 5 A (el de más edad). El mayor valor fue de 6,27, obtenido el caballo 3A, que resultó ser el de menor edad. Para el GRUPO B, el valor EDV más bajo fue de 3,25 y el más alto de 8,39. Estos valores corresponden a los caballos 3B y 2B respectivamente. 2B era el semental del grupo que más yeguas cubría. No se encontró diferencia significativa entre EDV del GRUPO A y EDV del GRUPO B.

El parámetro RI tuvo una media y un rango mayores en el GRUPO B. Dentro del GRUPO A, el menor valor de RI fue de 0,32 y correspondió al caballo 4 A. El mayor valor fue de 0,69, obtenido el caballo 5A, que resultó ser el de más edad. Para el GRUPO B, el valor RI más bajo fue de 0,40 y el más alto de 0,63. Estos valores corresponden a los caballos 3B y 2B respectivamente. 2B era el semental del grupo que más yeguas cubría. No se encontró diferencia significativa entre RI del GRUPO A y RI del GRUPO B.

El parámetro PI tuvo una media y un rango mayores en el GRUPO B. Dentro del GRUPO A, el menor valor de PI fue de 0,30 y correspondió al caballo 4 A. El mayor valor fue de 1,05, obtenido el caballo 5A, que resultó ser el de más edad. Para el GRUPO B, el valor PI más bajo fue de 0,51 (caballo 4B, el de más edad del grupo) y el más alto de 0,92 (caballos 3B y 5B). No se encontró diferencia significativa entre PI del GRUPO A y PI del GRUPO B.

Para ver si hay diferencias estadísticamente significativas entre PSV, EDV, RI y PI del GRUPO A y PSV, EDV, RI y PI del GRUPO B, se aplica la prueba t de Student. Dado que la lateralidad no influye, puede realizarse la comparación de medias entre los GRUPOS A y B incluyendo los testículos izquierdo y derecho conjuntamente (N=12 por grupo), en lugar de hacerlo por individuos (N=6 por grupo), lo que aumenta el tamaño de la muestra.

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre el GRUPO A y B para ninguno de los 4 parámetros (PSV, EDV, RI y PI), aunque sí se ha visto que los 4 son ligeramente superiores en el GRUPO B. Sin embargo, teniendo en cuenta que los valores de p son relativamente bajos, es posible que aumentando el tamaño de la muestra a 10 individuos por grupo pudieran encontrarse diferencias significativas, pero 12 (6 por grupo) son pocos animales teniendo en cuenta que la desviación estándar no es demasiado baja en comparación con las medias.

Estos datos se recogen en la **Tabla 11** junto con los valores de la Desviación Típica y los de la Significación. Se considera que la diferencia es estadísticamente significativa si $p < 0,005$.

	GRUPO A		GRUPO B		SIGNIFICACIÓN (P)
	RANGO	MEDIA ± DESVIACIÓN ESTÁNDAR	RANGO	MEDIA ± DESVIACIÓN ESTÁNDAR	
PSV (cm/s)	5,41 - 10,85	7,59±1,64	7,62 – 18,16	9,60±3,21	0,066
EDV (cm/s)	2,39 - 6,27	3,95±0,97	3,25 – 8,39	4,46±1,47	0,334
RI (cm/s)	0,32 - 0,69	0,47±0,11	0,40 – 0,63	0,52±0,06	0,115
PI (cm/s)	0,30 – 1,05	0,63±0,21	0,51 – 0,92	0,73±0,12	0,161

Tabla 11: Rangos, Medias y Desviación Típica de PSV, EDV, RI y PI de los GRUPOS A y B. Significación de la diferencia entre PSV, EDV, RI y PI de los GRUPOS A y B

Según la bibliografía, un incremento en la perfusión testicular se ve reflejado en un aumento de PSV y EDV y en una disminución de RI y PI. Es decir, la sangre circula a mayor velocidad y se le opone menor resistencia a su circulación, lo cual deriva en una mejora del flujo sanguíneo al testículo. En los animales tratados con pentoxifilina se ha visto un aumento de TABFR (y por tanto, implícitamente, de PSV y EDV) acompañado de un descenso de los índices de resistencia (RI) y pulsatilidad (PI) (**Pozor y cols, 2011**). Esto también es sugerido por **Pozor y cols (2006)** y **Bollwein y cols (2008)**: la administración de hCG conlleva un aumento de PSV y EDV (y en consecuencia de TABF y TABFR, parámetros no calculados en este estudio), junto con una disminución de RI y PI. Esta mejora en la vascularización del testículo se acompañó en los citados trabajos de un incremento en las hormonas reproductivas, las cuales mantienen a su vez una correlación positiva con el estatus reproductivo del animal (**McDonnell y Murray 1995**).

Visto esto, sería esperable que los animales con acceso a actividad reproductiva (GRUPO B) tuvieran una mayor vascularización testicular, y que esto se viera en unos valores de PSV y EDV mayores, y menores para RI y PI, con respecto a los animales sin actividad reproductiva (GRUPO A). Sin embargo, en las condiciones de nuestro estudio, los valores de RI y PI son mayores en el GRUPO B que en el GRUPO A. Pese a que esta diferencia no es estadísticamente significativa, esta tendencia podría deberse a que en ambos grupos, pero sobre todo en el B, se encontraron testículos con distintos grados de fibrosis. En el GRUPO A, sólo el caballo 5A presentaba un grado bastante elevado, coincidiendo con ser el animal de más edad del grupo y con tener los valores de PSV, RI y PI más altos del grupo, y los más altos del estudio para RI y PI. En el GRUPO B, todos los caballos excepto 6B presentaron fibrosis en mayor o menor medida. El animal con más grado de fibrosis testicular fue 3B, coincidiendo con los mayores valores de RI y PI, pese a no ser el animal de más edad del grupo. 5B, el caballo más mayor del grupo, presentó un grado moderado de fibrosis. Si bien en general se trataba de animales de más edad, también se vio esta alteración en los animales 2B y 3B, de 5 y 7 años respectivamente. Los animales con mayor grado de fibrosis y mayores valores de RI y PI fueron los que además presentaron algunas ondas de tipo bifásico “resistente”.

De esto puede concluirse que la fibrosis testicular parece estar asociada a edades avanzadas (**Turner, 2007**) pero que no siempre es así y también puede encontrarse en animales

jóvenes por otras causas. Ya que en los animales con fibrosis se detectaron valores más altos de RI y PI, y además se obtuvieron algunas ondas bifásicas, se puede deducir que la fibrosis produce una resistencia a la circulación de la sangre en el testículo y por tanto una peor perfusión del mismo.

Así pues, aunque serían esperables valores de RI y PI más bajos en el GRUPO B, sin embargo éstos son más altos, por lo que podría ser que los índices RI y PI se encuentren más ligados a factores como la edad y/o la fibrosis testicular, que al estatus reproductivo del animal. En cuanto al tipo de ondas obtenidas, pese a que las de tipo bifásico aparecen sobre todo en el GRUPO B, esto también podría estar condicionado por la fibrosis, como sucede con RI y PI.

En el GRUPO A, los valores más bajos de PSV, RI y PI corresponden al mismo caballo (4A). Los valores más altos de estos mismos parámetros se obtuvieron todos en el caballo 5A, que resulta ser el de más edad del grupo.

En el GRUPO B, los valores más altos de PSV y EDV pertenecen al caballo 2B, que además es el que mayor volumen de yeguas cubría, mientras que los valores más bajos de estos parámetros se obtuvieron ambos en el caballo 5B. El caballo 3B fue el que tuvo los mayores valores de RI y PI, mientras que éstos tuvieron el menor de los valores en el caballo 4B.

En casi todos los casos, los valores máximo y mínimo de cada parámetro fueron más altos en el GRUPO B. En cambio, el valor máximo de RI y PI fue mayor en el GRUPO A, hecho que sería explicable por que corresponden al animal de mayor edad del grupo (5A), que además presentaba un grado bastante elevado de fibrosis testicular, con lo cual no sería totalmente representativo.

El tipo de onda predominante fue la de forma monofásica (forma "no-resistente"). Sin embargo, en algunos caballos se obtuvieron algunas ondas bifásicas (forma "resistente"). En el GRUPO A, sólo un caballo presentó este tipo de onda en algunas mediciones (6A). Dentro del GRUPO B, el caballo 2B presentó alguna onda bifásica, y los caballos 3B (máximos valores de RI y PI) y 4B (mínimos valores de RI y PI) presentaron varias de estas ondas.

Cabe señalar que los valores obtenidos para ambos grupos están por debajo o en el rango inferior de los aportados por **Pozor y McDonnell en 2004**. Esto puede deberse a que los rangos de valores son muy amplios y variables, y sobre todo a que en el presente estudio se han medido arterias intratesticulares y los valores orientativos fueron tomados en la parte marginal de la arteria testicular. **Pozor y cols (2004)** vieron que los valores de todos los parámetros disminuían cuanto más distal a la arteria principal se medía (los valores obtenidos en la parte marginal eran menores a los obtenidos a nivel del cordón testicular).

El trabajo se ha realizado con un número limitado de animales y algunos de ellos presentando fibrosis testicular, lo que ha interferido en los resultados. Sin embargo, los resultados obtenidos son suficientes para considerar interesante el continuar con esta línea de investigación, usando mayor número de animales y sin ninguna alteración.

Ampliando este estudio para encontrar diferencias significativas entre reproductores y no reproductores, podría recalcarse la importancia de la vascularización para la función del testículo y la posibilidad de usar Doppler como herramienta de valoración y diagnóstico de problemas de fertilidad en el caballo. Esto tiene además implicaciones a la hora de valorar a un semental,

puesto que serán esperables valores de PSV, EDV, RI y PI distintos a los de caballos no activos reproductivamente.

OBJETIVO 3: Relacionar patologías testiculares con los valores de perfusión obtenidos por Eco-Doppler

El tercer objetivo del presente trabajo consistía en estudiar la perfusión testicular en caballos que tenían alguna alteración en uno de sus testículos, comparándola con el contralateral y con los valores de los GRUPOS A y B, en función de la actividad reproductiva. Las patologías halladas fueron hidrocele, criptorquidia y trauma escrotal. Los resultados obtenidos se exponen a continuación:

Caso 1: Monórquido con hidrocele: PRE. 5 años.

Los valores obtenidos para el caso de hidrocele están recogidos en el **Anexo 2**. Se comparan a continuación con los valores medios obtenidos en este estudio (en concreto los del grupo A por ser un animal sin actividad reproductiva) (**Tabla 12**). PSV y EDV fueron inferiores a la media obtenida en el estudio. RI y PI fueron ligeramente superiores a los valores medios del estudio, pero muy similares a éstos. Las ondas registradas en este caso fueron monofásicas “no-resistentes”.

	HIDROCELE (Media)	Valores obtenidos NORMALES (GRUPO A) (Media)
PSV (cm/s)	6,96	7,59
EDV (cm/s)	3,52	3,95
RI	0,49	0,47
PI	0,65	0,63

Tabla 12: Comparación de los valores de PSV, EDV, RI y PI de un caballo monórquido con hidrocele con los valores medios de PSV, EDV, RI y PI del GRUPO A

Es decir, en el hidrocele se vio una ligera variación en la vascularización testicular, con menor velocidad del flujo sanguíneo y un ligero aumento en la resistencia a su circulación, es decir que la perfusión estaba disminuida como cabría esperar en esta patología, aunque los valores no se alejaron mucho de la media.

Caso 2: Criptórquido unilateral: Bretón. 5 años.

Los valores obtenidos para el caso de criptórquido están recogidos en el **Anexo 2**. Se comparan a continuación los valores del testículo criptórquido, con los del testículo descendido del mismo animal, así como con los valores medios obtenidos en este estudio (en concreto los del grupo A por ser un animal sin actividad reproductiva) (**Tabla 13**).

	Valores obtenidos Test. Descendido (Media)	Valores obtenidos Testi.Criptórquido (Media)	Valores obtenidos Normales (GRUPO A) (Media)
PSV (cm/s)	4,66	4,80	7,59
EDV (cm/s)	2,25	2,15	3,95
RI	0,51	0,54	0,47
PI	0,55	0,59	0,63

Tabla 13: Comparación de los valores de PSV, EDV, RI y PI de un caballo criptórquido (testículo descendido y testículo criptórquido) con los valores medios de PSV, EDV, RI y PI del GRUPO A

En el caso del caballo criptórquido, los valores de PSV, EDV, RI y PI del testículo no descendido (izquierdo) son similares a los del testículo descendido (derecho).

PSV y EDV de ambos testículos son inferiores a los valores medios del GRUPO A (se ha comparado con este grupo por ser un animal sin actividad reproductiva). RI de los dos testículos es mayor al valor medio del estudio (GRUPO A). Por su parte, el PI medio de ambos testículos está por debajo de los valores medios del GRUPO A.

En cuanto a la forma de las ondas obtenidas, predominaron las de tipo monofásico en los dos testículos, pero en el criptórquido también se registró alguna onda de forma bifásica.

En este caso, fue llamativo que ambos testículos tuvieran una perfusión similar (ligeramente menor en el criptórquido), pero inferior a lo normal. Esto podría concordar con lo mencionado por **Pozor y McDonnell (2007)**: el daño vascular de un testículo puede afectar a la vascularización del contralateral.

Caso 3: Herida en escroto: Lusitano. 6 años.

El caballo con una herida en la bolsa escrotal del testículo izquierdo fue evaluado 3 semanas (21 días) después de que se suturó el defecto, como evaluación previa del estado del testículo antes de ser dado de alta en el HV-UZ. Se detectó un leve grado de hidrocele en el testículo afectado. Los valores de la perfusión testicular están recogidos en el **Anexo 2**. Se comparan a continuación los valores del testículo afectado, con lo del testículo sano del mismo animal, así como con los valores medios obtenidos en este estudio (en este caso con los del GRUPO B por ser un animal con actividad reproductiva) (**Tabla 14**).

	Valores obtenidos Testí.Intacto (Media)	Valores obtenidos Testículo.Herida Escroto (Media)	Valores obtenidos Normales(GRUPO B) (Media)
PSV (cm/s)	5,94	6,92	9,60
EDV (cm/s)	3,38	3,24	4,46
RI	0,43	0,53	0,52
PI	0,55	0,73	0,73

Tabla 14: Comparación de los valores de PSV, EDV, RI y PI de un caballo con un trauma escrotal (testículo dañado y testículo sano) con los valores medios de PSV, EDV, RI y PI del GRUPO B

El testículo herido en comparación del sano presenta unas mayores PSV, RI y PI, pero una menor EDV.

Al compararlos con los valores medios del estudio (GRUPO B), el testículo intacto tiene valores menores para los cuatro parámetros, mientras que el afectado tiene valores también inferiores para PSV y EDV, pero prácticamente iguales para RI y PI.

Las ondas registradas fueron de tipo monofásico, salvo alguna bifásica obtenida en el testículo con el escroto lesionado.

Además, se vio un ligero acúmulo de líquido entre el la túnica vaginal y el testículo, lo que podría considerarse normal por la inflamación sufrida.

En conclusión, la perfusión no se vio muy afectada, teniendo en cuenta que la herida fue tratada y ya habían transcurrido 3 semanas, pero la valoración ecográfica fue una herramienta muy útil para poder valorar la viabilidad del testículo.

CONCLUSIONES

1. La técnica para valorar el flujo testicular mediante Doppler puede aprenderse y realizarse con cierto adiestramiento pero sin excesiva dificultad.
2. En las condiciones de este estudio, no hay diferencias estadísticamente significativas en la vascularización testicular entre caballos con y sin actividad reproductiva, para los parámetros estudiados. No obstante, ampliando el número de animales del estudio podrían encontrarse estas diferencias.
3. En los caballos en los que se detectaron patologías, la ecografía Doppler testicular fue una técnica eficaz para detectar alteraciones en la perfusión. Esto recalca la utilidad del Doppler como modalidad diagnóstica, además de como técnica para el estudio e investigación de nuevas formas para mejorar el área de la reproducción equina.

BIBLIOGRAFÍA

Ball B.A., 2004: What Can we Expect for the Future in Stallion Reproduction? International Veterinary Information Service

Biagiotti G, Cavallini G, Modenini G, Vitali G, Gianoroli L, 2002: Spermatogenesis and spectral echo-colour Doppler traces from the main testicular artery. *BJU Int*; 90: 903–908.

Bollwein H., Schulze J.J., Miyamoto A. y Sieme H., 2006: Testicular blood flow and plasma concentrations of testosterone and total estrogen in stallion after administration of human chorionic gonadotropin. *Animal Reproduction Science*; 94: 146–147

Boyd A., Pozor M.A., Bailey C.S., Vertegen J., 2006: Effect of seasonality on testicular blood flow in mature stallions. *Animal Reproduction Science*; 94: 144–145

Brito L. F.C., 2007: Evaluation of Stallion Sperm Morphology. *Clinical Techniques in Equine Practice*; 6:249-264.

Damber J.E. y Bergh A., 1992: Testicular microcirculation, a forgotten essential in andrology? *International Journal of Andrology*; Volume 15, Issue 4: 285-292

Del Campo M.R., Donoso M.X., Parrish J.J., Ginther O.J., 1990: In vitro fertilization of in vitro-matured equine oocytes. *Journal of Equine Veterinary Science*; Volume 10, Issue 1: 18–22

Dubinsky T., Chen P., Maklad N., 1998: Color-flow and power Doppler imaging of the testes. *World J Urol*; 16:35-40

Faber N.F., Roser J.F., 2000: Testicular biopsy in stallions: Diagnostic potential and effects on prospective fertility. *J Reprod Fertil; Suppl.* 56:31-42

Gumbsch P., Gabler C., Holtzmann A., 2002: Colour-coded duplex sonography of the testes of dogs. *Vet Rec*; 151:140-144.

Hinrichs K., Choi Y.H, 2005: Assisted Reproductive Techniques in the Horse. *Clinical Techniques in Equine Practice*; Volume 6, Issue 4, 249–264.

Hinrichs, K., 2005: Update on equine ICSI and cloning. *Proceedings of the 2005 Annual Conference of the Society for Theriogenology*, Volume 64, Issue 3: 535–541

Johnson L., Carter G. K., Varner D. D., Taylor T. S., Blanchard T. L. and Rembert M. S., 1994: The relationship of daily sperm production with number of Sertoli cells and testicular size in adult horses: role of primitive spermatogonia, *Journal of Reproduction and Fertility*; 100: 315-321

Kass E.J., Stork B.R., Steinert B.W., 2001: Varicocele in adolescence induces left and right testicular volume loss. *BJU Int*; 87:499-501

Kay G.W., Grobbelaar J.A.N., Hattingh J., 1992: Heritable testicular hypoplasia in Nguni (Bos indicus) bulls: vascular characteristics and testosterone production. *Journal of Reproduction and Fertility*; 96: 537-547

- Kay G.W., Grobbelaar J.A.N., Hattingh J., 1992:** Effect of surgical restriction of growth of the testicular artery on testis size and histology in bulls. *Journal of Reproduction and Fertility*; 96: 549-553
- Little T.V., Woods G.L., 1987:** Ultrasonography of accessory sex glands in the stallion. *J Reprod Fert*; 35 (Suppl):87-94
- Love C.C., 1992:** Ultrasonographic evaluation of the testis, epididymis, and spermatic cord of the stallion. *Vet Clin North Am (Equine Pract)*; 8:167-182
- Love C.C., 1998:** Ultrasonography of the scrotal contents and penis of the stallion. In: Rantanen NW, McKinnon AO, eds. *Equine Diagnostic Ultrasonography*. Baltimore, MD: Williams & Wilkins; 253-270
- Markey C.M., Jequier A.M., Meyer G.T., 1995:** Relationship between testicular morphology and sperm production following ischemia in the ram. *Reprod Fertil Dev*; 7: 119-128
- McDonnell S.M. y Murray S.C., 1995:** Bachelor and Harem Stallion Behavior' and Endocrinology. *Biol Reprod Mono*; 1: 577-590
- Morel, 2007:** *Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management*, Capítulo 1. CABI Publishing: 1-17
- Morel, 2007:** *Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management*, Capítulo 18. CABI Publishing: 249-262
- Papa F.O., Melo C.M., Fioratti E.G., Dell' Aqua J.A., Zahn F.S., Alvarenga M.A., 2008:** Freezing of stallion epididymal sperm. *Animal Reproduction Science*; Volume 107, Issues 3-4: 293-301
- Pickett B.W., Amann R.P., 1993:** Cryopreservation of semen. *Equine Reproduction*: 769-785
- Pinggera G.M, Mitterberger M., Bartsch G., Strasser H., Gradl J., Aigner F., Pallwein L. y Frauscher F., 2007:** Assessment of the intratesticular resistive index by colour Doppler ultrasonography measurements as a predictor of spermatogenesis. *Journal Compilation*; 101: 722-726
- Pozor M.A, Kolonko D., 2000:** Morphological and clinical studies on testicular artery of the stallion *Medycyna Wet*; 57: 822-826.
- Pozor M.A. y McDonnell S.M, 2002:** Doppler Ultrasound measures of testicular blood flow in stallions. *Theriogenology*; 58: 437-440.
- Pozor M.A, McDonnell S.M, 2004:** Color Doppler Ultrasound Evaluation of Testicular Blood Flow in Stallions. *Theriogenology*; 61: 799-810
- Pozor M. A., 2005:** How to Evaluate a Stallion's Scrotum Using Ultrasound. 51 Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners – AAEP.
- Pozor, M.A., 2005:** Diagnostic applications of ultrasonography to stallion's reproductive tract. *Theriogenology*; 64: 505-509

- Pozor M.A., Macpherson M.L., Troedsson M.H.T. y Verstegen J., 2006:** Effect of a single administration of human chorionic gonadotropin (hCG) on testicular blood flow in stallions. *Animal Reproduction Science*; 94: 146–147
- Pozor M.A., 2007:** Evaluation of Testicular Vasculature in Stallions. *Clin Tech Equine Pract*; 6: 271-277
- Pozor, M.A., 2010:** New developments in ultrasound evaluation of the stallion's reproductive system. *Proceedings of the 49th British Equine Veterinary Association Congress.*
- Pozor M.A, Muehlhaus J., Kinga A., Macpherson M.L., Troedsson M.H., Bailey C.S., 2011:** Effect of pentoxifylline treatment on testicular perfusion and semen quality in Miniature horse stallions. *Theriogenology*; 76: 1027–1035
- Rantanen N., McKinnon A.; 1998:** *Equine Diagnostic Ultrasonography*, Capítulo 1. Williams & Wilkins, 1-18.
- Reef V.B, 1998:** *Equine Diagnostic Ultrasound*, Capítulo 1. Saunders, 1-23.
- Reef V.B, 1998:** *Equine Diagnostic Ultrasound*, Capítulo 10. Saunders, 446-449.
- Samper J.C., Pycock, McKinnon, 2007:** *Current Therapy in Equine Reproduction*. Sección III Capítulo 26: 167-170
- Samper J.C., Morris L., Plough T.A., 2012:** The Use of Sex-Sorted Stallion Semen in Embryo Transfer Programs. *Journal of Equine Veterinary Science*; Volume 32, Issue 7: 387–389
- Senger P.L, 2003:** Pathways to pregnancy and parturition, Capítulo 3. *Current Conceptions Inc.* 44-79
- Singer E.A., Golijanin D.J., Davis R.S y Dogra V., 2006:** ¿Qué hay de nuevo en ecografía urológica? *Urol Clin N Am*; 33: 279 – 286
- Squires E.L., 2005:** Integration of future biotechnologies into the equine industry. Special Issue: *Proceedings of the 4th International Symposium on Stallion Reproduction*; Volume 89, Issues 1–4:187–198
- Squires E.L, Maxwell H, 2011:** Management of Stallions for Maximum Reproductive efficiency. II Congreso Argentino de Reproducción Equina.
- Stout T.A.E., 2005:** Modulating reproductive activity in stallions: A review. *Animal Reproduction Science*; 89: 93-103
- Tarhan F, Erbay E, Erdog̃an E, 2000:** Effects of unilateral testicular torsion on the blood flow of contralateral testis. *Acan J Urol Nephrol*; 34: 229-232
- Tibary DMV Ahmed, S. Rodriguez MV Jacobo, 2011:** Causes and management of subfertility in stallions, II Congreso Argentino de Reproducción Equina.
- Turner, R.M.O., 2007:** Pathogenesis, Diagnosis, and Management of Testicular Degeneration in Stallions. *Clinical Techniques in Equine Practices*, Volume 6, Issue 4: 278-284

http://193.146.57.132/depeca/repositorio/ asignaturas/5/ECOGRAFIA_PPT.pdf
Cruz J.V, Heredia Gallego E.M.

González

<http://www.facebook.com/pages/VETERINARY-ANATOMY>