



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA**

Informe de Trabajo Final presentado para optar al Grado de
Médica Veterinaria

Modalidad: Proyecto de investigación

**DETERMINAR LAS DIFERENCIAS EN LOS ÍNDICES
VELOCIMÉTRICOS DE LA ARTERIA TESTICULAR EN BURROS (*equus
africanus asinus*) DURANTE LA TEMPORADA REPRODUCTIVA Y LA
NO REPRODUCTIVA**

Guillermina Alonso

37.489.419

Director: Dr. M. V Mario Alfredo Salvi

Río Cuarto – Córdoba

Julio 2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del Trabajo Final:

**DETERMINAR LAS DIFERENCIAS EN LOS ÍNDICES
VELOCIMÉTRITOS DE LA ARTERIA TESTICULAR EN BURROS (*equus
africanus asinus*) DURANTE LA TEMPORADA REPRODUCTIVA Y LA
NO REPRODUCTIVA**

Autor: **Guillermina Alonso**
DNI: 37.489.419

Director: Dr. M. V Mario Alfredo Salvi

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la Comisión
Evaluadora:

M.V. Rafael Audap Soubie _____

M. V Carolina Alonso _____

Fecha de Presentación: ____/____/____.

Secretario Académico

DEDICATORIA

Para mis papás, que siempre me dieron la libertad de poder elegir, equivocarme y crecer.

Para mis hermanos, las cuatro personas que nunca podrían faltar en mi vida.

Para mis abuelos, quienes siempre confían en mí.

Para mis amigos, que nunca me dejan sola.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Río Cuarto, por darme la posibilidad de lograr el título de Médica Veterinaria.

A mis profesores y amigos Mario y Rafael, por su enorme generosidad y enseñanza a lo largo de todos estos años.

Al profesor Luis Losinno e integrantes del Laboratorio de Producción Equina, por brindarme sus instalaciones para realizar mis Tesis Final de Grado sobre sus animales.

ÍNDICE DE TABLAS Y TEXTOS

- Resumen	7
- Summary	8
- Introducción	
- <i>Equus africanus asinus</i>	9
- Anatomía y fisiología del aparato del reproductor macho equino	10
- Generalidades de la ecografía Doppler	19
- Examen ecográfico Doppler en el macho	23
- Objetivos	32
- Materiales y métodos	33
- Resultados	35
- <i>Tabla N° 1:</i> Índices velocimétricos de la arteria testicular	35
- <i>Tabla N° 2:</i> Valores promedios de los índices velocimétricos de la arteria testicular	36
- Discusión	37
- Conclusiones	38
- Bibliografía citada	39

ÍNDICE DE FIGURAS

- <i>Figura N° 1:</i> Diagrama: tracto reproductor del padrillo	12
- <i>Figura N° 2:</i> Disección de testículo equino.....	13
- <i>Figura N° 3:</i> Diagrama: vasculatura testicular en equinos	15
- <i>Figura N° 4:</i> Disección de testículo equino y epidídimo	16
- <i>Figura N° 5:</i> Diagrama: cambio de frecuencia Doppler	20
- <i>Figura N° 6:</i> Traza espectral: ondas por encima de la línea base	20
- <i>Figura N° 7:</i> Traza espectral: ondas por debajo de la línea base	21
- <i>Figura N° 8:</i> Imagen Doppler espectral de onda pulsada	21
- <i>Figura N° 9:</i> Imagen Doppler espectral de onda continua.....	22
- <i>Figura N° 10:</i> Disección de testículo equino: cordón espermático e imagen Doppler color del cordón	23
- <i>Figura N° 11:</i> Imagen ecográfica Doppler color: parénquima y arteria testicular ...	24
- <i>Figura N° 12:</i> Disección de testículo equino: corte transversal y su imagen ecográfica en modo B	24
- <i>Figura N° 13:</i> Disección de testículo equino: corte longitudinal y su imagen ecográfica en modo B	25
- <i>Figura N° 14:</i> Imagen ecográfica Doppler color espectral: arteria testicular en cordón espermático y en región marginal	26
- <i>Figura N° 15:</i> Representación con Doppler color espectral de un ciclo cardiaco	28
- <i>Figura N° 16:</i> Posicionamiento del padrillo o burro en la manga	33
- <i>Figura N° 17:</i> Posición del transductor: cordón espermático	34
- <i>Figura N° 18:</i> Imagen ecográfica: cola de epidídimo	34

RESUMEN

El burro (*equus africanus asinus*) es considerado uno de los animales domésticos más importantes en muchos países (Smith, *et al.*, 2005) debido a su capacidad de sobrevivir, reproducirse, producir carne y leche en condiciones ambientales adversas (Polidori, *et al.*, 2008). La funcionalidad testicular es de importancia para lograr producir y liberar espermatozoides viables (Little y Reed Holyoak, 1992) y depende en gran medida de una adecuada perfusión sanguínea, ya que cualquier alteración en ella afecta la espermatogénesis, el volumen testicular y puede afectar de manera permanente la producción espermática tanto del testículo afectado como del contralateral (Oguzkurt, *et al.*, 1998; Vigueraz, *et al.*, 2004; Tarhan, *et al.*, 2000; Bergh, *et al.*, 2001; Kass, *et al.*, 2001; Paduch y Niedzielski, 1997). Los estudios de la performance reproductiva de los burros, como la evaluación del correcto funcionamiento de los testículos, son necesarios para incrementar su población y evitar la extinción de ciertas razas (Gastal, *et al.*, 1996). La ecografía Doppler espectral evalúa la velocidad a la que los glóbulos rojos se mueven a través de los vasos sanguíneos durante el ciclo cardíaco, permitiendo obtener diferentes parámetros, a saber: velocidad de pico sistólico (VSM), velocidad diastólica final (VDF), velocidades máximas promediadas en el tiempo (VMPT) y los índices de resistencia (IR) y de pulsatilidad (IP) (Jee, *et al.*, 1997; Wielgos, *et al.*, 1998). Teniendo en cuenta la escasa información disponible sobre el tema y la importancia de la correcta funcionalidad testicular en équidos, el objetivo de este estudio es determinar las diferencias existentes entre la temporada reproductiva y la no reproductiva en los índices de resistencia y pulsatilidad de la arteria testicular de los burros mediante la técnica de ultrasonido Doppler espectral. Se utilizaron para esto 4 burros adultos machos de diferentes razas de entre 2 y 8 años de edad y un ecógrafo portátil Doppler color, con transductor lineal multifrecuencia (5-10 MHz). Las mediciones obtenidas fueron analizadas descriptivamente y estadísticamente por medio de la prueba T del test de Student. Un nivel de significancia de $P < 0.05$ fue utilizado. En los resultados se observó que los índices velocimétricos obtenidos en la arteria testicular de los burros a nivel del cordón espermático fueron mayores que aquellos obtenidos en la región marginal en ambos testículos y en ambas estaciones del año. Sin embargo, dichos índices no fueron estadísticamente diferentes entre testículos derechos e izquierdos, ni entre el invierno y el verano. Se concluyó que no hay diferencias estadísticamente significativas en los índices velocimétricos de la arteria testicular de los burros entre la temporada reproductiva y la no reproductiva, tampoco hay diferencias entre testículos derechos e izquierdos, sin embargo si existe diferencia entre los índices a nivel marginal de la arteria testicular y del cordón espermático de la misma, se concluye también que la evaluación mediante ecografía Doppler color y espectral de la arteria testicular es una herramienta útil, no invasiva, rápida y fácil de realizar que permite registrar los parámetros velocimétricos en los burros machos y en los padrillos con el fin de evaluar la funcionalidad testicular mediante su grado de perfusión vascular.

SUMMARY

The aim of this study is to determine the differences between the reproductive and non-reproductive seasons of the donkey jacks in the resistance (RI) and pulsatility (PI) indexes of testicular artery using the spectral color Doppler ultrasound technique. This study was performed using 4 adult donkey jacks of different breeds, between 2 and 8 years old. The evaluations were carried out with a portable color Doppler ultrasound scanner with a linear multifrequency probe (5-10 MHz). Measurements were analyzed descriptively and statistically by means of the test T of Student test. A significance level of $P < 0.05$ was used. In the results it was observed that the Doppler indexes obtained in the spermatic cord were greater than those obtained in the marginal region of the testicular artery of both testicles in both seasons. Nevertheless, the RI and PI were not statistically different between right and left testes, nor between winter and summer. It was concluded that there is not statically significant difference in velocimetric indexes of the testicular artery in donkey jacks between the reproductive and non-reproductive season, neither is there difference between right and left testicles, nevertheless is there difference in indexes between the marginal region and the spermatic cord region of the testicular artery, it was also concluded that the evaluation by spectral color Doppler ultrasound of the testicular artery is a useful, non-invasive, quick and easy to manipulate tool that allows recording the velocimetric parameters in donkey jacks and stallions in order to evaluate testicular functionality by the gonadal vascular perfusion grade.

INTRODUCCIÓN

Equus africanus asinus

El burro (*equus africanus asinus*) es considerado uno de los animales domésticos más importantes en muchos países del norte de África y Medio Oriente (Smith, *et al.*, 2005) debido a su capacidad para sobrevivir, reproducirse, producir carne y leche en condiciones ambientales adversas (Polidori, *et al.*, 2008).

En los últimos años la aparición de la maquinaria agrícola ha generado un descenso considerable en la población mundial de burros (Monks, 2016), sin embargo, en la actualidad muchos países del Mediterráneo han incrementado nuevamente su interés por la cría de estos animales debido a las propiedades nutricionales de la leche de burra para la nutrición infantil (Salimei, *at. al.*, 2004; Vincenzetti, *et. al.*, 2008). Los burros pueden ser criados con varios fines, entre los que se encuentran:

- *Producción de carne*

Los burros pueden constituir una importante fuente de carne en regiones áridas y semiáridas. Además de ser una manera para aumentar el ingreso de los criadores locales, junto con la producción de leche de burra. La carne de burro es baja en colesterol y alta en proteína (Polidori, *et al.*, 2008) y forma parte de la gastronomía de algunas regiones de España y otros países como China.

- *Producción de leche*

La leche de vaca es la más utilizada cuando se requiere un sustituto para la leche humana, pero en un número de casos cada vez mayor, esta puede generar una respuesta inmunológica anormal, algunos niños pueden presentar intolerancia incluso a las fórmulas que contienen soja o proteínas hidrolizadas (Iacono, *et al.*, 1992). Es por eso que en los últimos años, se ha estudiado la leche de otros mamíferos para sustituir, cuando se requiera, a la leche humana. Actualmente, ha aumentado el interés por la leche de burra en Europa, debido a que puede considerarse la más similar a la leche humana, y los resultados obtenidos por científicos pediatras confirman el valor nutricional que tiene esta leche, conocido desde tiempos ancestrales en muchos países del mundo (Polidori, *et al.*, 2009). Esta leche tiene un alto contenido de proteínas en el suero (Chiavari, *et al.*, 2005), una alta cantidad de lisozima, la cual está prácticamente ausente en la leche de vaca, oveja y cabra (Vincenzetti, *et al.*, 2007) y propiedades antibacterianas (Vincenzetti, *et al.*, 2005), contiene péptidos hormonales que estimulan la recuperación funcional y el desarrollo del intestino (Carroccio, *et al.*, 1999) y factores de crecimiento y protección (Molkentin, 1999).

- *Producción de mulas*

La práctica de los cruzamientos del burro con otros équidos es casi tan antigua como su domesticación (Grinder, *et al.*, 2006). Actualmente un número importante de burros es utilizado para la producción de mulas, las cuales son necesarias para el ejército, el turismo y el transporte en áreas montañosas, lo cual es

importante en Argentina (Miragaya, *et al.*, 2017). La obtención de un biotipo adecuado de mula depende en gran medida de una correcta selección del burro macho (Miragaya, *et al.*, 2017). El conocimiento de su cortejo natural y su comportamiento de apareamiento es muy útil para implementar estrategias que permitan aproximarse lo más posible a su conducta natural durante el programa de servicio de los burros (Canisso, *et al.*, 2009).

- *Producción de Ejiao (China)*

El Ejiao es una especie de gelatina que se obtiene de la piel del burro, si bien esta ha sido utilizada por la medicina China tradicional durante miles de años, su popularidad se incrementó en los últimos años (Nuwer, 2018). Esta gelatina puede ser disuelta en (agua caliente o en alcohol para utilizarse como comida o bebida, y en productos de belleza tales como cremas faciales. La misma mejoraría la circulación sanguínea, siendo requerido por personas con anemia, o problemas reproductivos, sin embargo, muchos expertos médicos cuestionan su real eficacia (Millan Valencia, 2017).

En China, millones de burros son criados por sus pieles; debido a que cada año, este país produce cerca de 5.000 toneladas de Ejiao (Vidal Lij, 2016). Debido a esta demanda, debe importar burros desde países como Brasil y México, siendo África el epicentro del comercio (Nuwer, 2018).

Anatomía y fisiología del aparato reproductor del macho equino

Para ser capaz de evaluar correctamente un padrillo debe conocerse la localización, forma y tamaño normal de cada órgano. Los órganos reproductivos del macho consisten en dos testículos, cada uno suspendido por un cordón espermático y el músculo cremaster externo, dos epidídimos, dos conductos deferentes cada uno con una ampulla, las glándulas sexuales accesorias (dos glándulas vesiculares, una próstata y dos glándulas bulbo uretrales), el pene, y los músculos uretrales, isquiocavernosos, bulboesponjosos y retractor del pene (Fig. 1) (Amann, 2011a).

Un padrillo fértil debe producir, transportar, almacenar y eyacular espermatozoides viables en el sitio de fertilización. Esta serie de eventos requiere de funciones coordinadas de varios procesos fisiológicos que incluyen el control neuroendocrino, la espermatogénesis, la maduración espermática, la eyaculación del semen y la fertilización (Little y Reed Holyoak, 1992).

El **escroto** es un bolsillo externo de piel compuesto por dos sacos, uno para cada testículo, separados por el septo escrotal. Sirve para cubrir y proteger los testículos, pero su función primaria es regular la temperatura de los mismos y de la cola del epidídimo, ya que deben estar a una temperatura inferior a la corporal para lograr una espermatogénesis normal. El mismo está conformado por cuatro capas: 1) La capa externa es la piel, la cual contiene un gran número de glándulas sudoríparas 2) Debajo de la piel y del tejido conectivo asociado se encuentra la túnica Dartos. La cual es una capa de fibras de músculo liso

entramadas con tejido conectivo. Esta forma el componente más externo de cada saco escrotal y, sus fibras musculares ayudan en el control de la temperatura testicular (Amann, 2011a), en ambientes fríos se contraen para acercar a los testículos hacia la pared abdominal y minimizar la pérdida de calor, y en ambientes calurosos se relajan para maximizar el enfriamiento de la sangre venosa mediante evaporación desde la piel escrotal (Amann, 2011b), 3) La tercer capa es el tejido conectivo laxo o fascia escrotal, la cual permite al testículo una gran movilidad vertical y horizontal dentro del saco escrotal. Normalmente, previene la rotación de 180° del testículo (Pickett, *et al.*, 1988; Setchell y Brooks, 1988; Stickle y Fessler, 1978), 4) La capa interna del escroto es la túnica vaginal parietal o túnica vaginal común. La misma se extiende desde la cavidad abdominal, pasando a través del canal inguinal hasta el escroto. Esta membrana recubre al testículo y al epidídimo y forma parte del cordón espermático (Fig. 2). La cavidad vaginal (formada por el espacio existente entre la túnica vaginal parietal y la túnica vaginal visceral) contiene un fluido seroso, que sirve como lubricante y facilita el movimiento del testículo dentro de la túnica vaginal parietal. En padrillos mayores, pueden desarrollarse adherencias en esta cavidad. Probablemente, estas adherencias surjan luego de hemorragias ligeras de los capilares de las tunicas, inducidas por traumas ligeros del escroto y testículos como consecuencia de la actividad normal del padriillo, e impiden la motilidad del testículo y pueden reducir la eficiencia de los mecanismos de control de la temperatura (Amann, 2011a).

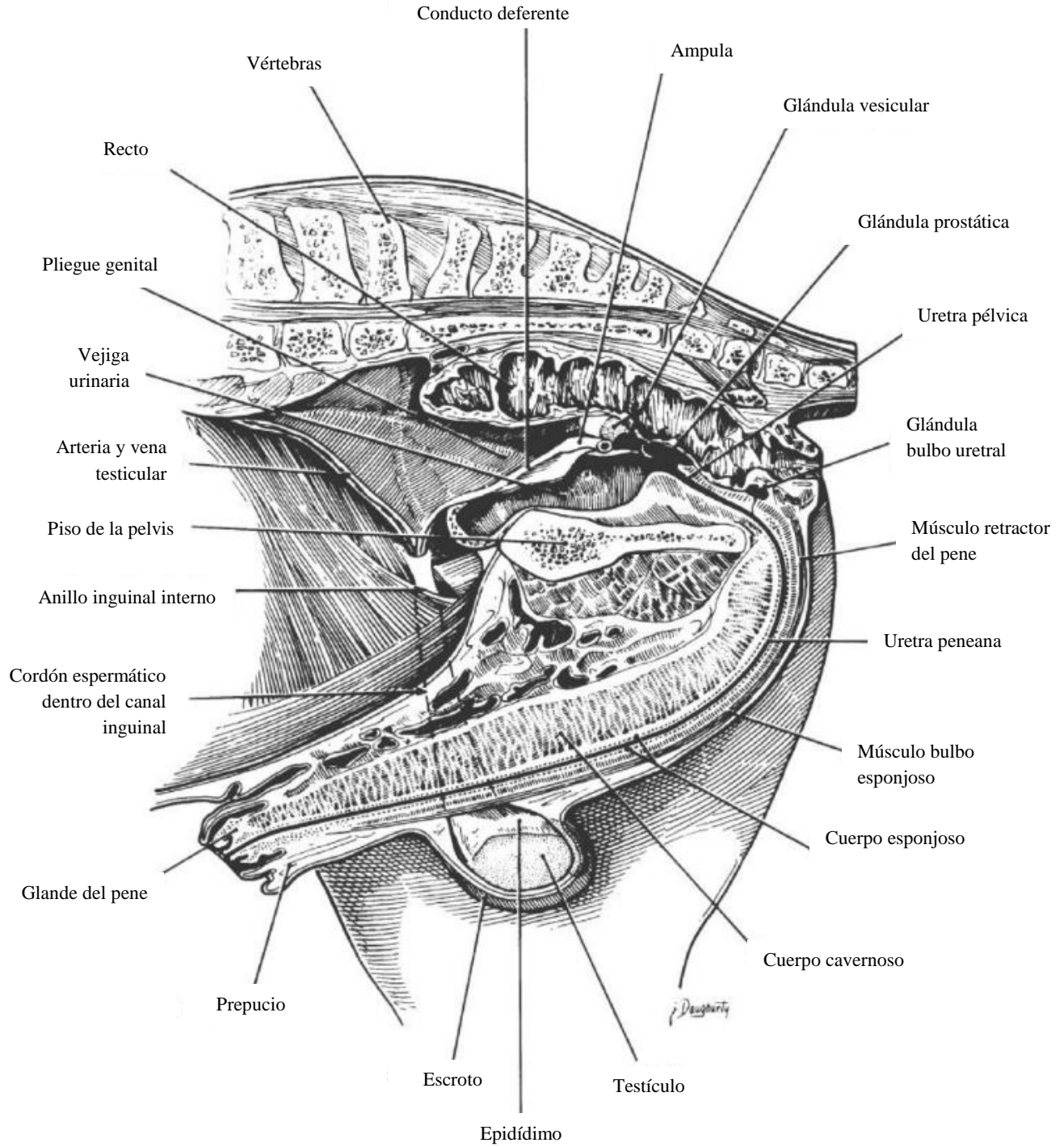


Fig. 1: Diagrama del tracto reproductor del padrillo en una vista lateral (Amann, 2011a).

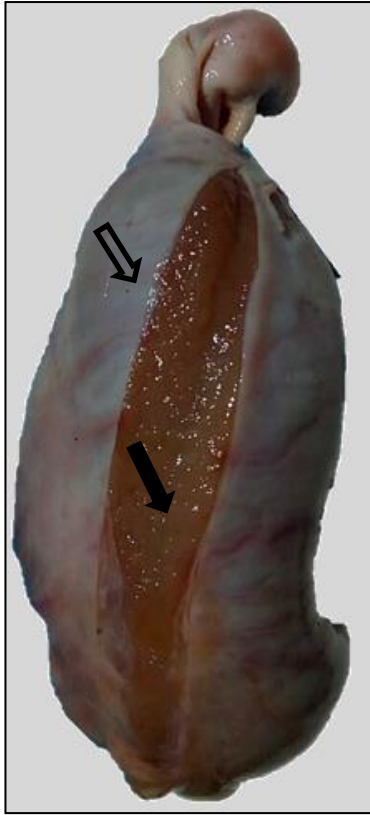


Fig. 2: Disección de testículo equino donde puede observarse el parénquima testicular (flecha con relleno) y la túnica vaginal (flecha sin relleno).

El **testículo** es la gónada masculina, se encuentra íntimamente rodeado por una fuerte capsula fibrosa llamada albugínea (Monteiro, 2017), y tiene un doble rol importante: a) producción de espermatozoides y b) secreción de hormonas esenciales para el funcionamiento del epidídimo, de las glándulas accesorias, y para la expresión del comportamiento sexual (Amann, 2011*b*).

El parénquima testicular consiste en túbulos seminíferos y tejido intersticial (Amann, 2011*a*). Las células germinales forman el epitelio de los túbulos seminíferos, e incluyen a las espermatogonias, espermatoцитos primarios, espermatoцитos secundarios, y espermátidas. La duración de la espermatogénesis (57 días) no está influenciada por la estación del año y presenta tres fases: a) espermatocitogénesis (19.4 días), caracterizada por la mitosis y diferenciación de espermatogonias, b) meiosis (19.4 días), aquí ocurre el intercambio de material genético entre los cromosomas homólogos en los espermatoцитos primarios seguido de las dos divisiones meióticas, obteniendo espermátidas haploides, y c) espermatogénesis (18.6 días), es la diferenciación y especialización en la función para obtener espermátidas totalmente diferenciadas, las cuales son llamadas espermatozoides luego de liberarse del epitelio seminífero. En consecuencia, el intervalo entre un evento que afecte negativamente la espermatogénesis y la disminución de la calidad seminal puede ser tan largo como 2 meses (Amann, 2011*b*).

Las células de Sertoli descansan en la lámina propia del túbulo seminífero y su extenso citoplasma se dirige hacia la luz tubular. Sus funciones incluyen: 1) formación de la barrera hemato testicular, 2) soporte estructural y nutricional para las células germinales, 3) movimiento de las células germinales en desarrollo dentro del epitelio seminífero, 4) liberación de espermátidas maduras mediante la espermiación, 5) fagocitosis de células germinales degeneradas y cuerpos residuales del citoplasma, 6) secreción de fluidos y proteínas que bañan a las células germinales en desarrollo y permiten el movimiento de los espermatozoides desde los túbulos hacia la rete testis, y 7) comunicación entre células germinales en desarrollo, células mioideas y células de Leydig. Las células de Sertoli dependen de dos hormonas: la hormona folículo estimulante (FSH), secretada por la adenohipófisis de manera pulsátil en respuesta al estímulo producido por la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), y la testosterona (Amann, 2011*b*). En equinos, estas células proliferan cuando llega la temporada de servicio (Johnson y Thompson, 1983; Johnson, 1986; Johnson y Nguyen, 1986; Johnson y Tatum, 1988) y su número es un importante indicador de la cantidad de espermatozoides que un testículo puede producir (Berndtson, *et al.*, 1983).

El tejido intersticial incluye vasos sanguíneos, canales linfáticos, nervios, tejido conectivo, y células de Leydig. Estas células constantemente secretan cantidades basales de testosterona y dihidrotestosterona, las cuales tienen efectos intratesticulares y periféricos, una alta concentración local de testosterona estimula la espermatogénesis a través de las células mioideas peri tubulares y células de Sertoli (Sharpe, 1988; Skinner, 1991), en epidídimo permite su funcionamiento normal y por circulación, llega a varios órganos blanco para mantener las características físicas masculinas, la libido y la función de las glándulas sexuales accesorias (Little y Reed, 1992). Estas células son estimuladas por la hormona luteinizante (LH), secretada por la adenohipófisis de manera pulsátil en respuesta al estímulo producido por GnRH (Amann, 2011*b*).

Los caballos tienen estacionalidad reproductiva y las características de los testículos se modifican marcadamente a lo largo del año. Sin embargo, a pesar de esto, continúan con la producción espermática durante todo el año. El máximo desarrollo testicular y su funcionamiento ocurren al final de la primavera y durante el verano (Berndtson, *et al.*, 1983; Johnson y Tatum, 1988; Clay, *et al.*, 1987; Clay, *et al.*, 1988*a*; Clay, *et al.*, 1988*b*), mientras que su tamaño y funcionamiento mínimo ocurren durante el invierno. En este momento del año, los testículos de un padrillo normal son un 25% más livianos, contienen alrededor del 35% menos de células de Leydig y consecuentemente menos producción de testosterona, hay un 31% menos de células de Sertoli y producen un 40-50% menos de espermatozoides. Grandes diferencias estacionales se observan en la tasa de secreción y concentración sanguínea de todas las hormonas reproductivas (Amann, 2011*b*).

El **cordón espermático** se extiende desde el anillo inguinal interno hasta su inserción en el testículo. Este suspende al testículo dentro del escroto y actúa como pasaje para el conducto deferente, nervios, y

vasos sanguíneos asociados con el testículo (Fig. 3). El músculo cremaster externo se ubica en el aspecto lateral del cordón espermático, a pesar de que no es parte del mismo. Este músculo estriado ayuda a soportar al testículo y al control de la temperatura testicular (Amann, 2011b).

El cordón espermático incluye la arteria testicular altamente convoluta (Fig. 3), la cual forma ramificaciones sobre la superficie del testículo, que se extienden hacia el parénquima testicular y retornan al plexo pampiniforme del cordón para dirigirse hacia el abdomen (Turner, 1998).

La sangre es drenada del testículo por la vena central, pudiendo este vaso, ser visualizado ecográficamente (Fig. 12 y Fig. 13) (Love, 1992). La sangre de la vena central es enfriada mediante evaporación de humedad desde la piel escrotal (Setchell, 1978; Setchell y Brooks, 1988), luego atraviesa la túnica albugínea, y forma una íntima red de pequeñas venas alrededor de la arteria convoluta (Ippensen, *et al.*, 1972). Esta red de venas es llamada plexo pampiniforme y sirve como sistema de intercambio de calor, donde el calor es transferido desde la sangre arterial que es más caliente (39°C) hacia la sangre venosa que es más fría, dejando el plexo pampiniforme con 34°C. De esta forma, la perfusión arterial y capilar llega al testículo con varios grados menos que como llegaría a otros órganos viscerales, permaneciendo la temperatura del tejido cercana a los 34°C (Amann, 2011b).

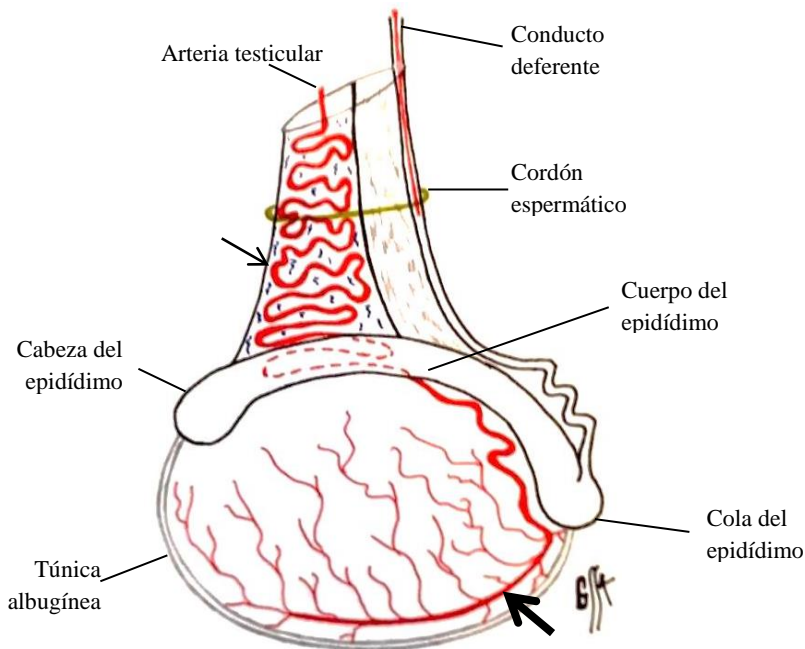


Fig. 3: Diagrama de la vasculatura testicular en los equinos. La arteria testicular se encuentra altamente enroscada en las venas testiculares formando el plexo pampiniforme, el cual aquí no se esquematiza, conformando el aspecto convoluta (flecha delgada) de la misma. Luego atraviesa el eje longitudinal testicular hacia el polo caudal donde emite ramas para irrigar el parénquima, el aspecto marginal se señala con la flecha gruesa (Audap Soubie, *et al.*, 2018).

El **epidídimo** está anatómicamente dividido en tres partes: cabeza, cuerpo y cola (Fig. 3 y 4). La cabeza se curva alrededor del testículo y del aspecto lateral del cordón espermático y está íntimamente unida al testículo. El cuerpo es una estructura cilíndrica débilmente unida a la superficie dorsal del testículo. Y la cola es grande, bulbosa, y está poco unida al polo caudal del testículo (Amann, 2011a) (Fig.

4). Dentro de la cabeza del epidídimo, los conductos eferentes se fusionan en un único conducto llamado conducto epididimario (Hemeida, *et al.*, 1892), este se pliega y con un patrón tortuoso atraviesa el cuerpo y cola del epidídimo y finalmente se continúa con el conducto deferente.

Desde un punto de vista funcional, el epidídimo tiene tres segmentos (Amann, 1987; Amann, 1988; Glover y Nicander, 1971; Johnson, *et al.*, 1978): el primero está compuesto por los conductos eferentes y el segmento inicial de la cabeza, y está involucrado en la reabsorción de la mayoría de los fluidos del testículo y en la secreción de algunos componentes, el segundo segmento incluye la mayor parte de la cabeza y el cuerpo del epidídimo y está involucrado en la maduración de espermatozoides, lo cual depende de secreciones específicas del epitelio, y el segmento terminal, compuesto por la cola del epidídimo y la parte proximal del conducto deferente, está involucrado en el almacenamiento de espermatozoides fértiles (Amann, 2011a).

El tiempo que permanece el espermatozoide en la cola del epidídimo está influenciado por la eyaculación (Amann, 1981; Amann, *et al.*, 1979). El número de espermatozoides en este sector es máximo en padrillos sexualmente restringidos (10 días) y reducido en machos que eyaculan diariamente o día de por medio (2 o 3 días) (Amann, *et al.*, 1979).

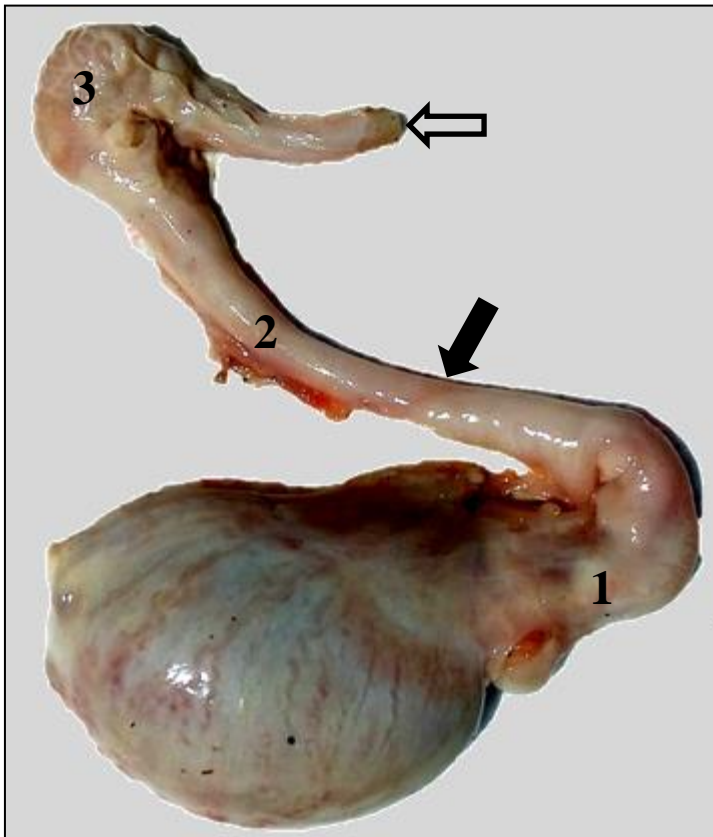


Fig. 4: Disección de testículo equino donde puede observarse el epidídimo (flecha con relleno), con su cabeza (1), cuerpo (2) y cola (3); y parte del conducto deferente (flecha sin relleno).

Las **Glándulas Sexuales Accesorias** secretan la mayoría del fluido presente en el eyaculado. Los espermatozoides de la cola del epidídimo y el conducto deferente son inmóviles hasta que se mezclan con los fluidos de estas glándulas durante la eyaculación (o con un buffer mediante intervención humana) (Amann, 2011b), su funcionalidad depende de la disponibilidad de testosterona en sangre periférica (Thompson, *et al.*, 1979a). La secreción de la glándula prostática es acuosa (Mann y Lutwak-Mann, 1981) y ayuda a limpiar la uretra durante la eyaculación, constituyendo la mayor proporción del plasma seminal (Amann, 2011b). El material gelatinoso a menudo encontrado en el plasma seminal, especialmente desde Agosto hasta Noviembre es secretado por las glándulas vesiculares (Mann y Lutwak-Mann, 1981), este efecto estacional o individual en la secreción de gel, puede reflejar diferencias en las concentraciones de testosterona en sangre. Finalmente, la secreción de las glándulas bulbo uretrales solo aporta una pequeña proporción al plasma seminal (Amann, 2011b).

La funcionalidad testicular es altamente dependiente de una apropiada **perfusión vascular**. La arteria testicular provee del suministro sanguíneo estable y necesario para los procesos metabólicos y para la producción espermática. El flujo sanguíneo testicular es lo más importante para llevar a cabo el transporte de nutrientes, la regulación en la producción de hormonas y la secreción de productos desde y hacia los testículos (Bergh y Damber, 1993). El control del flujo sanguíneo podría ser particularmente crítico para los testículos debido a que la concentración de oxígeno en los túbulos seminíferos debe ser muy baja para poder llevar a cabo la espermatogénesis (Setchell, 1990), lo cual los hace altamente susceptibles al daño por isquemia si cualquier disturbio disminuye el flujo sanguíneo (Ortiz Rodriguez, *et al.*, 2017). Se ha reportado que la obstrucción parcial de la arteria testicular afecta de forma negativa el crecimiento, volumen, y estructura histológica de los testículos en toros, causando la interrupción parcial o total de la espermatogénesis (Kay, *et al.*, 1992). Por esta razón, la identificación temprana de cualquier cambio en la perfusión vascular del testículo es crítica para el correcto diagnóstico de varias patologías testiculares y para la rápida implementación del tratamiento apropiado (Ortega Ferrusola, *et al.*, 2014).

- *Factores que pueden afectar el suministro sanguíneo hacia el testículo*

De la misma forma que el volumen testicular y la producción espermática diaria aumentan con la **edad** de los padrillos hasta cierto punto (Amann, *et al.*, 1979), varios reportes en humanos han demostrado que el flujo sanguíneo en los testículos también se incrementa con la edad (Middleton, *et al.*, 1989; Oyen, 2002). No se encontraron estudios en caballos que investiguen los parámetros velocimétricos en padrillos menores de 3 años., sin embargo en adultos se ha reportado un efecto de la edad sobre el flujo sanguíneo (Pozor y McDonnell, 2004).

Por otro lado, la gran variabilidad entre las diferentes razas en cuanto al **tamaño corporal** es una de las razones que dificulta la posibilidad de establecer valores de referencia estándares para los parámetros

velocimétricos. Se observaron diferencias en las medidas testiculares y en la producción espermática diaria entre caballos miniatura y caballos pesados (Sullivan y Pickett, 1975; Thompson, *et al.*, 1979b; Paccamonti, *et al.*, 1999; Kavak, *et al.*, 2003). De la misma forma, podemos suponer que la perfusión vascular testicular en los caballos pesados es mayor que en los miniatura (Ortega Ferrusola, *et al.*, 2014).

Además, debemos tener en cuenta que el caballo es una especie de fotoperiodo positivo. Esta **estacionalidad** es menos perceptible en los padrillos que en las yeguas, sin embargo, se puede observar influencia estacional en la producción espermática (Magistrini, *et al.*, 1987). Una mayor perfusión vascular testicular y un aumento en suero de las concentraciones de estradiol y testosterona han sido reportados en equinos durante la temporada reproductiva ($p < 0.05$) en comparación con los meses de invierno (Boyd, *et al.*, 2006). Se ha reportado que el diámetro de la arteria testicular se incrementaría en el verano para permitir una mayor perfusión (Tibary y Rodriguez, 2009). También, se ha sugerido que fluctuaciones en la perfusión testicular pueden ser las responsables de los cambios estacionales en la función testicular (Boyd, *et al.*, 2006; Pozor, 2007).

Los burros machos, comparten muchas características reproductivas con los caballos. Sin embargo, existen algunas **diferencias entre burros y equinos** que no deben olvidarse.

A pesar de que los hallazgos ultrasonográficos del tracto reproductor son similares, se ha reportado que los órganos reproductivos del burro macho son más grandes que los del padrillo (Tibary, *et al.*, 2006). Durante la erección y eyaculación, el glándulo de pene presenta una mayor dilatación y las glándulas accesorias también son más grandes, quizás debido al continuo estímulo producto de la interacción masculina, ya que los machos generalmente se mantienen juntos (Miragaya, *et al.*, 2017).

Otra característica propia de los burros machos es que requieren de mayor tiempo para lograr la erección y posterior eyaculación. Ellos completan su apareamiento entre 5 a 30 minutos, lo cual es bastante mayor al compararlo con los padrillos equinos, quienes lo completan en 10-11 minutos. El comportamiento de apareamiento incluye vocalización, olfateo de la vulva de la hembra, Flehmen y una o más montas previas a la exteriorización y erección del pene (Pugh, 2002).

A pesar de que algunas diferencias estacionales en la libido han sido observadas, estas aparentemente afectan poco o nada los parámetros seminales durante los meses invernales (Pugh, 2002).

Burros machos Martina Franca no mostraron diferencias significativas en las características morfométricas a lo largo del año. A pesar de que se observó una cierta influencia estacional en el tiempo de reacción, el cual fue mayor en primavera-verano que en otoño- invierno y en algunos parámetros seminales, estas diferencias no parecieron afectar la calidad seminal, con la excepción del mayor volumen y la menor concentración en invierno comparado con las otras estaciones (Carluccio, *et al.*, 2013). Esto contrasta con lo encontrado en padrillos equinos, en quienes el mayor volumen total ha sido observado en primavera-verano en comparación con el invierno (Janett, *et al.*, 2003, Janett, *et al.*, 2003b). Una posible

explicación para esto podría relacionarse con el mayor tiempo de reacción sexual en invierno. En efecto, el excesivo cortejo podría incrementar la cantidad de plasma seminal, como ha sido previamente reportado en padrillos (Ionata, *et al.*, 1991).

Finalmente, no debe olvidarse que el volumen testicular aumenta en padrillos cuando estos son sometidos a colecta de semen de forma rutinaria, por lo que se puede esperar un aumento en el flujo sanguíneo (Ortega Ferrusola, *et al.*, 2014). Además, una exposición continua y una interacción con yeguas afecta la función testicular (McDonnell, 2000). El aumento en la **actividad sexual** podría mejorar el flujo sanguíneo testicular debido a un aumento en la demanda de los tejidos testiculares para la producción espermática (McDonnell, 2000, Gracia Calvo y Ortega-Ferrusola, datos sin publicar).

En conclusión, los factores fisiológicos como edad, peso corporal, estacionalidad y actividad sexual afectan el flujo sanguíneo testicular y deben ser considerados a la hora de evaluar a los padrillos (Ortega Ferrusola, *et al.*, 2014).

Generalidades de la ecografía Doppler

La ecografía es un método diagnóstico por imagen no invasivo que provee importante información sobre la arquitectura interna de los órganos. Se basa en la emisión y recepción de ultrasonidos, los cuales son generados por el transductor. Al aplicar el transductor sobre la superficie de un animal, las ondas de sonido viajan a través de los tejidos, a medida que avanzan, parte de ellas serán reflejadas en forma de ecos, los cuales son devueltos al transductor, donde interaccionan con los cristales, produciendo una señal eléctrica que será analizada y transformada en un punto de luz. Los ultrasonidos no reflejados seguirán avanzando a través de los tejidos (Costa Farré, *et al.*, 2011).

El **Modo Doppler** permite que la dirección y velocidad del flujo sanguíneo sean determinadas y representadas en una imagen ecográfica. La velocidad a la cual las ondas de ultrasonido viajan a través del tejido es un valor constante, y la frecuencia en que dichas ondas regresan depende de la frecuencia del transductor, la cual es configurada por el usuario. Utilizando estos dos valores, el equipo es capaz de calcular el movimiento de distintas estructuras (por ejemplo, glóbulos rojos) en relación al haz de ultrasonido y representar la velocidad de este movimiento mediante una imagen ecográfica (Palgrave y Kidd, 2014b).

Como la onda de ultrasonido choca contra un objeto en movimiento, esta será reflejada y regresará hacia el transductor. La frecuencia con que esta onda regresa aumentará si el objeto se mueve hacia el transductor (cambio positivo de frecuencia) y disminuirá si el objeto se aleja del transductor (cambio negativo de frecuencia). La diferencia entre la frecuencia de onda emitida desde el transductor y la que regresa hacia el mismo es el cambio de frecuencia Doppler (Palgrave y Kidd, 2014b) (Fig. 5).

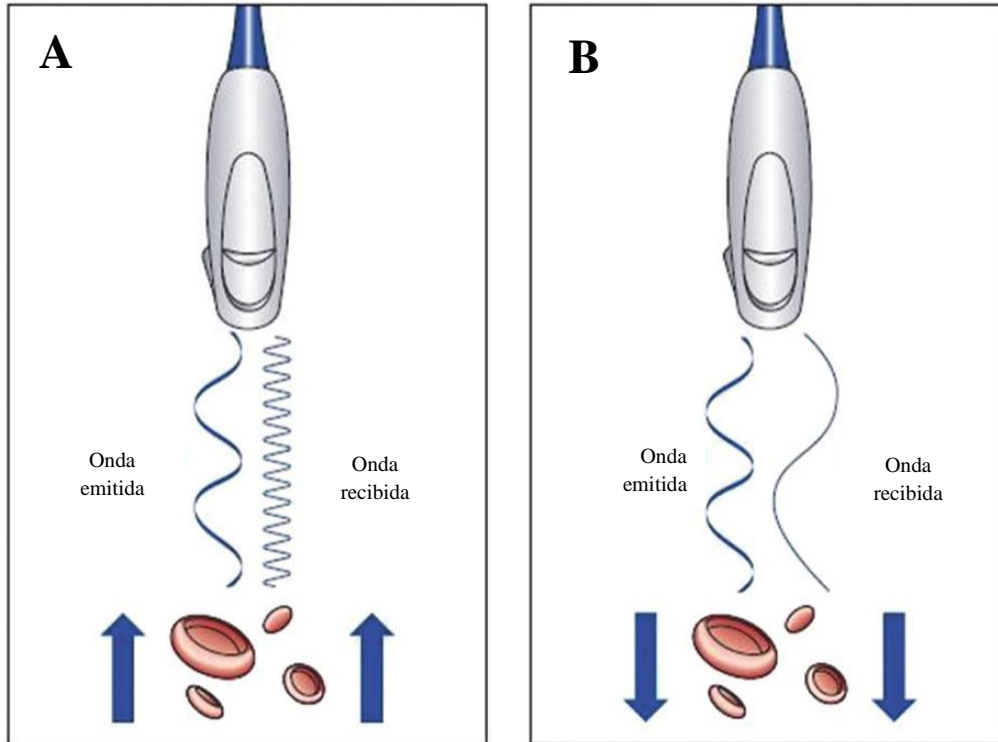


Fig. 5: Ilustración del cambio de frecuencia Doppler: A, cambio positivo de frecuencia, el flujo sanguíneo se dirige hacia el transductor y la onda recibida es de mayor frecuencia que la emitida; B, cambio negativo de frecuencia, el flujo sanguíneo se aleja del transductor y la onda recibida es de menor frecuencia que la emitida (Palgrave y Kidd, 2014).

- *Modo Doppler Espectral*

El modo Doppler Espectral es útil para cuantificar la velocidad y dirección del flujo sanguíneo en relación al tiempo. Las ondas de la traza espectral que se encuentran por encima de la línea base representan el flujo sanguíneo que se acerca al transductor (Fig. 6), mientras que las que se encuentran por debajo representan el flujo que se aleja del mismo (Fig. 7) (Palgrave y Kidd, 2014b).

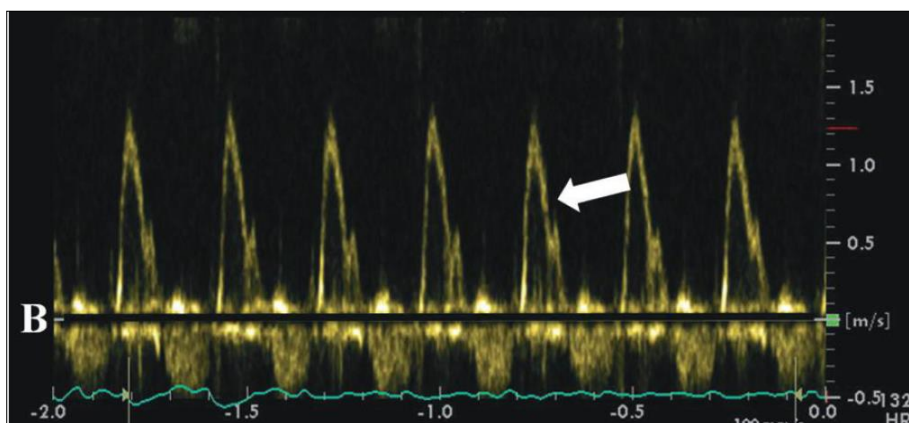


Fig. 6: Trazo espectral con ondas de alta frecuencia, lo que genera que se ubiquen por encima de la línea base (B), representando al flujo sanguíneo que se acerca al transductor (flecha) (Palgrave y Kidd, 2014b).

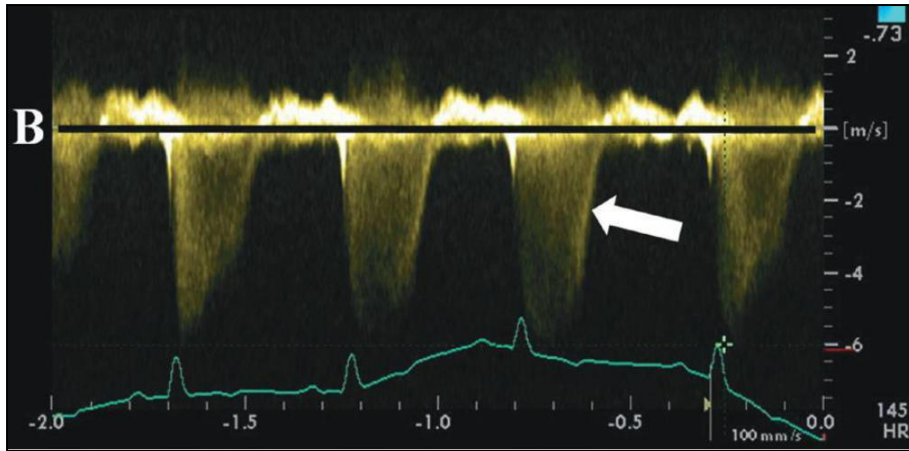


Fig. 7: Trazas espectrales con ondas de baja frecuencia, lo que genera que se ubiquen por debajo de la línea base (B), representando al flujo sanguíneo que se aleja del transductor (flecha) (Palgrave y Kidd, 2014b).

Dentro del Doppler Espectral se encuentra:

1. Doppler de Onda Pulsada

En este caso, se selecciona el tamaño de muestra deseado y solo los ecos reflejados en esta región serán observados, por lo que es específico para identificar la velocidad del flujo sanguíneo en un lugar pequeño, sin embargo es imperativo que el haz de ultrasonido sea paralelo a la línea del flujo sanguíneo para obtener lecturas de velocidad más confiables. Permite además, detectar turbulencia en el flujo, el flujo laminar se presenta en la pantalla como una onda sin relleno, lo cual indica que los glóbulos rojos viajan a una velocidad uniforme (Fig. 8), mientras que el flujo turbulento producirá un espectro más ancho, posiblemente un aumento de la velocidad máxima y la onda será con relleno (Palgrave y Kidd, 2014).

Debido a que el mismo cristal es quien envía y recibe las ondas de ultrasonido, este debe esperar a que la señal regrese antes de enviar otra onda, por lo cual, si los glóbulos rojos están viajando a una alta velocidad, estos pueden chocar contra la señal de ultrasonido que regresa antes de que alcance el transductor y la siguiente onda sea emitida, generando errores al representar en la pantalla la velocidad del flujo, por lo que este método no es confiable para medir flujo sanguíneo de alta velocidad (Palgrave y Kidd, 2014).

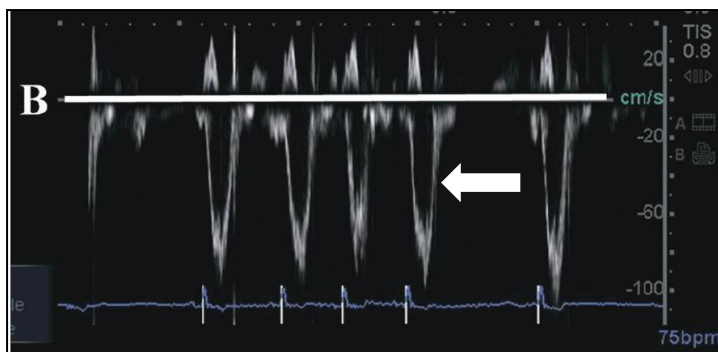


Fig. 8: Imagen Doppler espectral de onda pulsada. Las ondas sin relleno (flecha), indican flujo laminar, al estar por debajo de la línea base (B), representan flujo sanguíneo que se aleja del transductor (Palgrave y Kidd, 2014b).

2. Doppler de Onda Continua

Este tipo de Doppler Espectral está conformado por dos cristales separados dentro del transductor. Uno continuamente emite señales de ultrasonido, mientras que el otro continuamente recibe las señales, registrando el cambio de frecuencia Doppler a lo largo del haz de ultrasonido. Por lo tanto, es altamente confiable para medir el cambio Doppler y el flujo sanguíneo de alta velocidad. Sin embargo, cuando hay varias velocidades registradas simultáneamente, la onda presentará relleno (Fig. 9) (Palgrave y Kidd, 2014b).

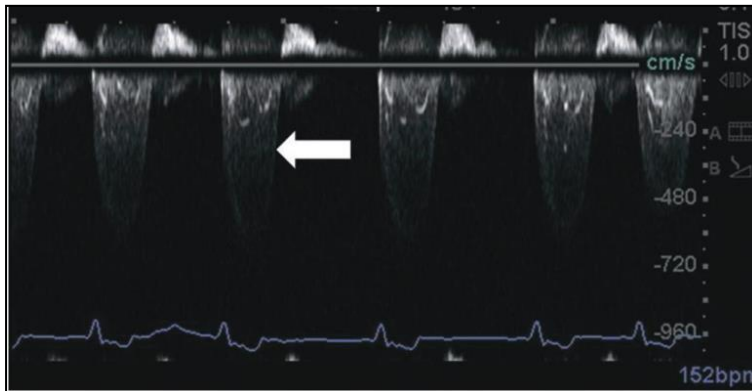


Fig. 9: Imagen Doppler espectral de onda continúa. Se observan ondas con relleno (flecha) debido al registro de varias velocidades simultáneamente (Palgrave y Kidd, 2014).

- *Doppler Color*

Es una variante del Doppler de Onda Pulsada, por lo que también utiliza una muestra para identificar la región de interés. Con este método, la dirección y velocidad relativa del flujo sanguíneo son caracterizadas y representadas utilizando un código de colores (Fig. 10). Los colores utilizados son definidos por el usuario, sin embargo la convención dicta que la dirección del flujo en relación al transductor debe seguir al acrónimo BART (bue away, red towards), traducido, azul cuando se aleja, rojo cuando se acerca. El flujo turbulento es indicado como un mosaiquismo de color. La velocidad relativa del flujo puede ser indicada por el brillo del color (alta velocidad, más brillo), pero al ser una variante del Doppler de Onda Pulsada, puede tener problemas al intentar representar altas velocidades (Palgrave y Kidd, 2014b).

- *Power Doppler*

Es una forma de Doppler que analiza la intensidad de los ecos que regresan e ignora la dirección del flujo. Se crea un mapa en color de los cambios de frecuencias Doppler donde el color y brillo del mismo representa la fuerza con la que retorna la señal (superpuesto con la imagen en modo B). Con este método es posible detectar flujo de muy baja velocidad (Palgrave y Kidd, 2014b).

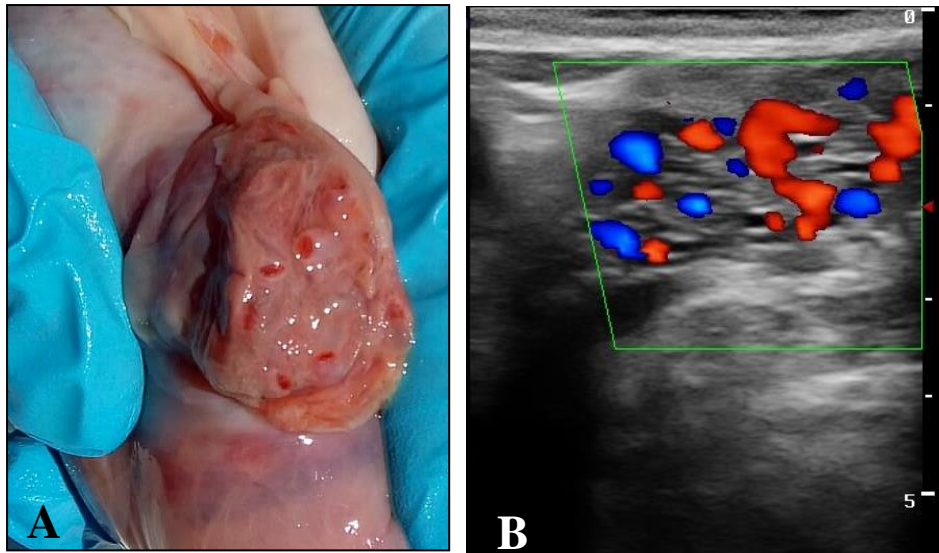


Fig. 10: A, disección de testículo equino mostrando el cordón espermático en un corte transversal, con sus numerosos vasos sanguíneos, responsables de la imagen ecográfica. B, Imagen Doppler color representando el flujo sanguíneo de la región del cordón espermático

Examen ecográfico Doppler en el macho

La ecografía Doppler es un buen método para el diagnóstico temprano de patologías relacionadas con desórdenes vasculares, y ha demostrado ser buen predictor de la calidad seminal en otras especies, como el perro y el humano (Schurich, *et al.*, 2009; Zelli, *et al.*, 2013; Pinggera, *et al.*, 2008). Se considera una alternativa a las técnicas invasivas como ser la aspiración con aguja fina y ensayos que requieran de laboratorios especializados para determinar la concentración de hormonas en plasma (Pozor, *et al.*, 2014), es también una técnica muy útil para monitorear el progreso de tratamientos médicos o quirúrgicos (García Calvo, *et al.*, 2015; Pozor, *et al.*, 2011).

La ecografía Doppler Color (EDC) ha sido exitosamente utilizada en andrología humana para el diagnóstico de desórdenes tales como varicocele, tumores testiculares, epididimitis, orquitis, torsión testicular, e infarto de testículo (Dubinsky, *et al.*, 1998; Herbener, 1996; Górecka Szyld, 1999; Pavlica y Barozzi, 2001; Farriol, *et al.*, 2000; Horstman, *et al.*, 1992; Sriprasad, *et al.*, 2001; Sidhu, 1999). Mediante esta técnica, el grado de perfusión local puede ser estimado directamente a nivel del tejido (Ginther y Utt, 2004) (Fig. 10 y Fig. 11).

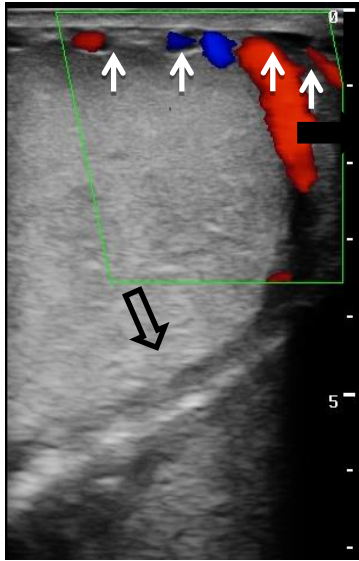


Fig. 11: Imagen ecográfica en Doppler color del parénquima testicular (flecha negra sin relleno), arteria testicular a nivel marginal (flecha negra con relleno) y las pequeñas ramas de la arteria testicular en la superficie del testículo (flechas blancas).

Para realizar el examen, los padrillos pueden colocarse dentro o fuera de la manga, y de ser necesario pueden recibir sedación, ya que el uso de Xilacina no afecta de forma significativa las medidas del flujo sanguíneo (Pozor y McDonnell, 2002). Es importante recordar realizar un examen ecográfico en modo B previo al examen en modo Doppler para lograr identificar la posición y el tamaño de las estructuras a evaluar y descartar así, posibles anomalías detectables mediante este modo de ecografía (Fig. 12 y Fig. 13) (Ginther y Utt, 2004).

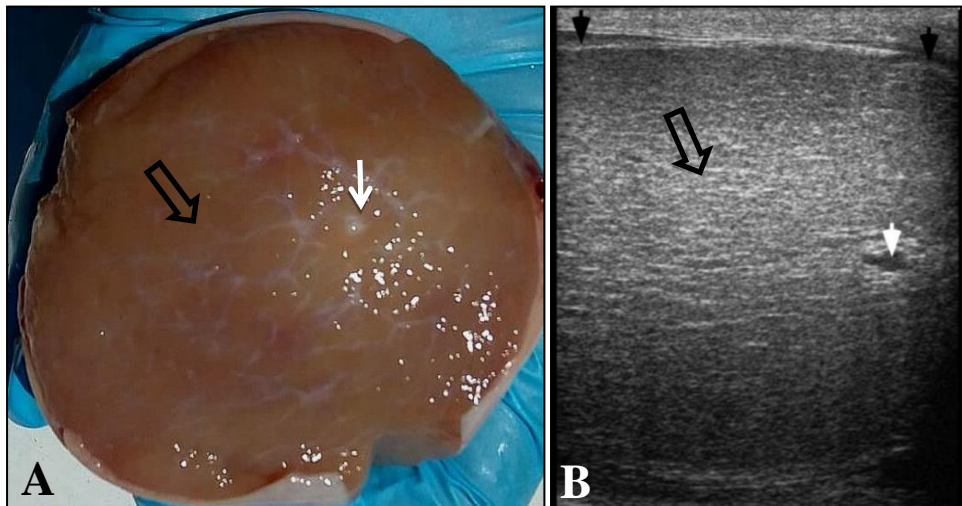


Fig. 12: A, disección de testículo equino en un corte transversal del mismo. B, imagen en modo B de un corte transversal del testículo (Turner, 2011). Parénquima (flecha negra sin relleno), vena central (flecha blanca). En imagen B, cavidad vaginal (flechas negras con relleno). La túnica vaginal parietal es la delgada línea blanca por fuera de la cavidad vaginal.

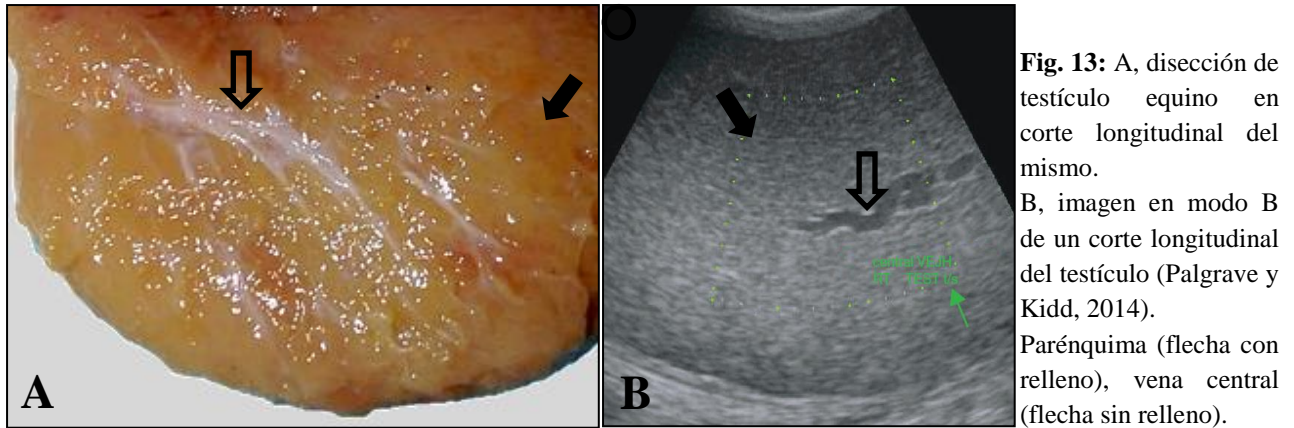


Fig. 13: A, disección de testículo equino en corte longitudinal del mismo. B, imagen en modo B de un corte longitudinal del testículo (Palgrave y Kidd, 2014). Parénquima (flecha con relleno), vena central (flecha sin relleno).

Para obtener las imágenes ecográficas, el transductor se coloca en la cara lateral del testículo perpendicular a su eje longitudinal, y debe moverse lentamente a través de toda la cara lateral para observar las imágenes transversales del parénquima y la vena central (Fig. 12). Las vistas longitudinales del parénquima con la vena testicular (Fig. 13) pueden ser obtenidas sosteniendo el transductor en la cara ventral del testículo paralelo a su eje longitudinal. Para evaluar epidídimo, el transductor puede posicionarse directamente sobre la región del mismo. Al igual que para el examen del cordón espermático, debiendo posicionar el transductor directamente sobre el mismo de forma paralela al suelo para observar cortes transversales, moviendo lentamente el transductor hacia arriba y hacia abajo (Turner, 2011).

Luego del examen con la EDC de testículo, epidídimo y cordón espermático, mediante el modo Doppler Espectral la velocidad del flujo sanguíneo dentro de vasos específicos puede ser registrada en las diversas etapas del ciclo cardíaco (velocidad sistólica y velocidad diastólica) (Nowicki, 2000; Krzanowski y Plichta, 2000), con esta modalidad aparecerá en la pantalla un pequeño cuadrado, que es el volumen de muestra, y una línea que es el ángulo de insonación (Pozor, 2007), el cual se forma por el haz de ultrasonido y la dirección del flujo sanguíneo y debe ser agudo, ya que si es recto u obtuso la señal es indetectable (Pestana, 2001). Para posicionar la muestra, es importante seleccionar el área que mediante EDC se observe más brillante con el objetivo de reducir la variabilidad entre y dentro de los grupos (Fig. 14a y Fig. 14b).

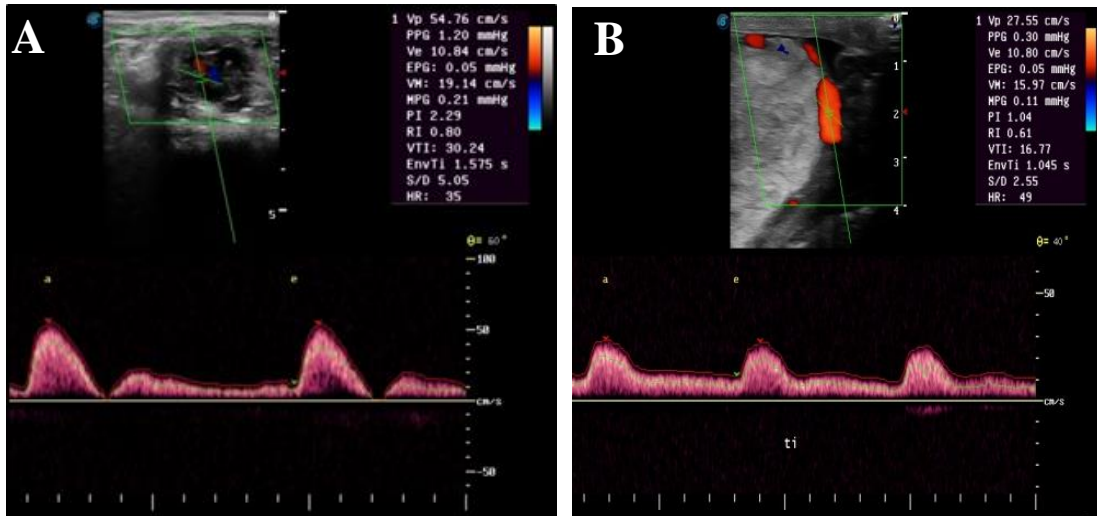


Fig. 14: Imagen ecográfica obtenida en modo Doppler color espectral de la arteria testicular a nivel del cordón espermático (A), y a nivel marginal (B).

Con la ecografía Doppler espectral se obtienen medidas precisas (VPS, velocidad del pico sistólico; VPD, velocidad del pico diastólico; VDF, velocidad diastólica final), esto permite el cálculo de índices velocimétricos que indican la flexibilidad y la resistencia de los vasos y tejidos circundantes, estos índices son especialmente útiles cuando se toman muestras pequeñas, en vasos tortuosos donde no hay segmentos rectos que permitan aplicar correctamente el ángulo Doppler (20-60°), ya que son independientes del mismo y se relacionan con la hemodinamia, proximal o distal al punto arterial examinado (Pozor, 2007).

Como se mencionó anteriormente, los índices velocimétricos se calculan utilizando los valores de VPS, VDF y VMPT (velocidades máximas promediadas en el tiempo) (Ginther y Utt, 2004). Específicamente, el índice de resistencia ($IR = [VPS - VDF / VPS]$) y el índice de pulsatilidad ($IP = [velocidad\ máxima - velocidad\ mínima] / velocidad\ promedio$) son calculados de forma rutinaria en el examen ecográfico Doppler de onda pulsada para evaluar el flujo sanguíneo en un órgano (Nowicki, 2000; Krzanowski y Plichta, 2000). Estos dos índices están altamente relacionados entre sí (coeficiente, >0.9) y usualmente solo uno es necesario, dependiendo de la preferencia del operador (Amso, *et al.*, 2001).

En contraste con la VPS y la VPD, los índices calculados (IR e IP) son independientes de la edad, el peso corporal, la frecuencia cardíaca, y el volumen testicular, y por lo tanto, cambios significativos en los mismos usualmente se asocian con patologías vasculares (Gumbsch, *et al.*, 2002). Estos parámetros disminuyen cuando hay cambios inflamatorios y aumentan con la edad, probablemente por procesos degenerativos (Jee, *et al.*, 1997; Wielgos, *et al.*, 1998). El IR indica la resistencia del flujo sanguíneo causada por el lecho micro vascular distal al lugar de medición. Mientras que, el IP cuantifica la pulsatilidad de la onda. Un aumento del IR o del IP indican disminución de la perfusión del tejido distal (Ortega Ferrusola, *et al.*, 2014). El IR es buen indicador de la funcionalidad del tejido testicular, además de identificar precozmente los trastornos reproductivos (Pinggera, *et al.*, 2008; Pozor, *et al.*, 2014).

Actualmente, se ha sugerido que tanto el IR como la VPS están significativamente relacionados con la tasa de producción espermática (TPE), mientras que la concentración de FSH o el volumen testicular no lo tanto (Biagiotti, *et al.*, 2002). Se ha demostrado que las variaciones en el flujo sanguíneo de la arteria capsular en humanos (equivalente a la arteria marginal en los padrillos) son las más representativas de la espermatogénesis (Gordon, *et al.*, 2003).

Estudios en equinos han evaluado las características del flujo y han establecido parámetros de referencia de los índices velocimétricos en la arteria testicular de padrillos: IR en aspecto convoluto, 0.56-0.99 (promedio: 0.78 ± 0.01), IR en aspecto marginal, 0.39-0.85 (promedio: 0.63 ± 0.01), IP en aspecto convoluto, 0.96-3.96 (promedio: 1.99 ± 0.07), IP en aspecto marginal, 0.55-2.29 (promedio: 1.15 ± 0.04), siendo las mediciones estadísticamente diferentes entre los IP de la región convoluta y la marginal ($P < 0.001$), a pesar de que los valores del IR obtenidos en el aspecto marginal de la arteria son ligeramente inferiores a los del cordón espermático (Pozor y McDonnell, 2004).

Los valores de referencia publicados para burros normales (Audap Soubie, *et al.*, 2018) son: IR en el aspecto convoluto del testículo izquierdo, 0.78 ± 0.06^{aA} , IR en el aspecto marginal del testículo izquierdo, 0.64 ± 0.13^{bB} , IR en el aspecto convoluto del testículo derecho, 0.79 ± 0.07^{aA} , IR en el aspecto marginal del testículo derecho, 0.62 ± 0.13^{bB} , IP en el aspecto convoluto del testículo izquierdo, 1.99 ± 0.48^{aA} , IP en el aspecto marginal del testículo izquierdo, 1.29 ± 0.63^{bB} , IP en el aspecto convoluto del testículo derecho, 2.05 ± 0.51^{aA} , IP en el aspecto marginal del testículo derecho, 1.18 ± 0.59^{bB} . Indicando que hay diferencias estadísticamente significativas entre las regiones de la arteria.

- *Imagen ecográfica Doppler Espectral*

Al realizar una ecografía con este método, el eje vertical observado en la pantalla representa la intensidad de la frecuencia Doppler expresada en KHz o en velocidad (cm/s), esta depende del número de glóbulos rojos que generan la señal Doppler, mientras que el eje horizontal representa el tiempo. La intensidad de los pixeles en el espectro indica el cambio de amplitud (Zwiebel, 2000) (Fig. 14).

Cada onda representa un ciclo cardíaco (Fig. 15), el punto máximo es la velocidad del pico sistólico (VPS) en la cual está representada la máxima frecuencia Doppler, mientras que, el punto más bajo justo antes de la siguiente sístole, representa la velocidad diastólica final (VDF), y el promedio de los valores máximos durante el ciclo cardíaco son las velocidades máximas promediadas en el tiempo (VMPT). Estos valores se muestran numéricamente en la pantalla (Ginther y Utt, 2004).

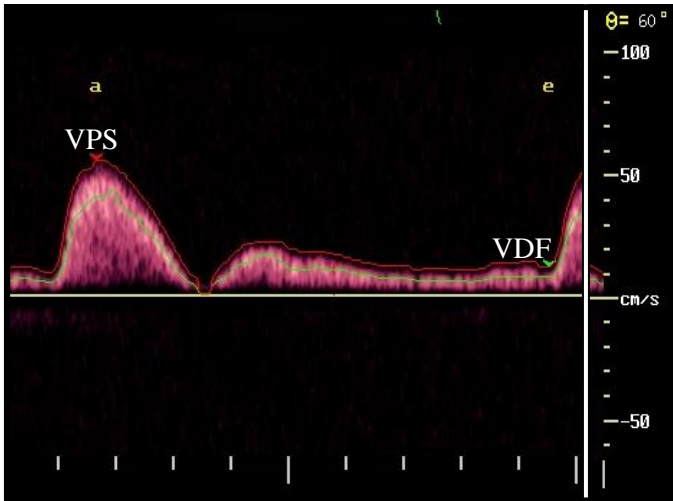


Fig. 15: Representación por medio del Doppler color espectral de un ciclo cardiaco. Se señala la velocidad de pico sistólico (VPS) y la velocidad diastólica final (VDF). A la derecha de la imagen puede observarse el ángulo Doppler arriba y la frecuencia Doppler debajo.

Una onda Doppler con un perfil sistólico amplio que progresivamente disminuye hacia el final de la diástole es característica de baja pulsatilidad, indicando que los vasos que irrigan un determinado lugar tienen una baja resistencia (Zwiebel, 2000). Mientras que una onda con un perfil sistólico empinado y un perfil diastólico bajo indica alta resistencia periférica (Ginther y Utt, 2004).

A su vez, la forma de la onda puede ser monofásica, con solo un pico sistólico, frecuentemente identificada en la parte marginal de la arteria testicular (Fig. 14b), o bifásica, característica de la parte convoluta en el cordón espermático (Fig. 14a) (Pozor, 2007).

- *Anormalidades testiculares detectables por US Doppler*

Estudios recientes en equinos demostraron que los índices velocimétricos, pueden ser utilizados en la práctica como indicadores clínicos de disfunción testicular en padrillos, estos poseen una correlación negativa con el número total de espermatozoides morfológicamente normales con motilidad progresiva y con el volumen testicular, y una correlación positiva con la concentración de FSH en circulación (Pozor, *et al.*, 2014).

Así como en medicina humana se reportó que altos valores en los índices velocimétricos están asociados con isquemia o procesos degenerativos (Jee, *et al.*, 1997; Wielgos, *et al.*, 1998), en un estudio se demostró que padrillos oligospermicos presentan también una mayor resistencia al flujo sanguíneo en la arteria testicular, reflejada en altos valores de IR e IP, mientras que los padrillos control (con función testicular normal) obtuvieron valores normales en dichos índices (Pozor, *et al.*, 2014).

Bajos valores de resistencia al flujo sanguíneo en la arteria testicular se corresponden con un aumento progresivo del volumen testicular y de los niveles de testosterona, lo que sugiere que una disminución en la resistencia sanguínea en los vasos tributarios y la mejor perfusión resultante ocurren cuando los

requerimientos metabólicos del parénquima testicular aumentan, como sucede durante la temporada reproductiva, cuando los padrillos son sometidos a una intensa actividad sexual (Strina, *et al.*, 2016).

Por otro lado, se determinó que los padrillos fértiles tienen mayores valores de Velocidad Diastólica Final, Velocidades Máximas Promediadas en el Tiempo y Flujo Sanguíneo Arterial Total, es decir una mayor perfusión testicular (Ortega Ferrusola, *et al.*, 2016).

Por lo tanto, la ultrasonografía Doppler demuestra ser una herramienta importante para la evaluación objetiva del flujo sanguíneo de la arteria testicular (Pozor y McDonnell, 2004). Su aplicación en equinos permite el diagnóstico precoz de enfermedades testiculares que comprometan el sistema vascular antes de que cualquier alteración estructural pueda ser observada (Monteiro, 2017).

A continuación, se describen brevemente algunas patologías del tracto reproductor del macho detectables mediante ultrasonografía Doppler:

La **torsión del cordón espermático** ocurre cuando el testículo rota sobre su eje vertical (Perkins y Frazer, 1994) y es una causa frecuente de aumento de tamaño escrotal en equinos (Tibary y Pearson, 2015). Los signos clínicos y la imagen Doppler dependen del grado de torsión y del período de tiempo desde su ocurrencia: las torsiones agudas están caracterizadas por interrupción del flujo sanguíneo dentro del parénquima testicular, en torsiones menores a 180° y/o crónicas, los signos clínicos pueden no estar presentes (Ortega Ferrusola, *et al.*, 2014), mientras que en una torsión de 180°, usualmente se observa hinchazón aguda del escroto y cólico. Mediante ecografía puede observarse que el flujo arterial continúa presente pero el flujo venoso es interrumpido y se observa dilatación venosa, debido al edema se presenta menor ecogenicidad en el parénquima testicular (Pozor, 2007). Las torsiones pueden ser recurrentes, y en las severas puede producirse hematocele e hidrocele con degeneración testicular (Edwards, 2008). La identificación ecográfica de la cola del epidídimo ayuda a identificar esta patología siempre que sea una torsión menor a 360°, debido a que en rotaciones de 360° la cola del epidídimo estará en su posición normal (Perkins y Frazer, 1994).

La **orquitis** es una reacción inflamatoria testicular, presenta aumento de tamaño, calor, dolor, hemorragia y necrosis del parénquima testicular. Está relacionada a subfertilidad temporaria o permanente, como resultado de agentes infecciosos, enfermedades autoinmunes y sobre todo de lesiones traumáticas generadas durante el servicio (Nascimento, *et al.*, 2011). Las orquitis están comúnmente asociadas a **epididimitis**, usualmente de causa infecciosa en los caballos, el examen físico revela agrandamiento y dolor del epidídimo y/o del testículo, mediante ecografía puede observarse agrandamiento e hipocogenicidad del epidídimo y a veces hidrocele, puede haber áreas hiperecoicas en casos crónicos (Ortega Ferrusola, *et al.*, 2014) y abscesos en las bacterianas (Turner, 1998). El Doppler color revela un aumento en el flujo sanguíneo en el epidídimo debido a la inflamación. La VPS aumenta y

el IR disminuye en humanos (Jee, *et al.*, 1997). Sin embargo, se han descrito altos valores en el IR en orquitis agudas, indicando isquemia probablemente debido a émbolos sanguíneos (Lefort, *et al.*, 2001). En concordancia con esto, un estudio (Ortega Ferrusola, *et al.*, 2014) encontró que padrillos con IR mayor a 0.72 en la arteria testicular a nivel del cordón espermático, presentaban áreas avasculares irregulares hipoecoicas en el parénquima testicular.

Varicocele es la dilatación de las venas del plexo pampiniforme (Jarow, 2001). Probablemente, en padrillos, al igual que en humanos (Weidner, *et al.* 2010), esta también sea la razón de muchos casos de disminución de la fertilidad, pero es frecuentemente subdiagnosticado (Ortega Ferrusola, *et al.*, 2014). El aumento de la temperatura escrotal, la reducción del flujo sanguíneo, el estrés oxidativo y la hipoxia son consecuencias que llevan a la infertilidad (Blumer, *et al.*, 2012). El varicocele ha sido diagnosticado de forma secundaria a hernias inguinales, hidrocele, orquitis o enfermedades cardíacas. Las venas varicosas son observadas en la periferia del cordón espermático como estructuras anecoicas dilatadas e irregulares sin signos de pulso (Ortega Ferrusola, *et al.*, 2014). Varios reportes han descrito que esta alteración reduce el volumen del testículo afectado y altera la motilidad y morfología espermática (Blumer, *et al.*, 2012). En cuanto a los parámetros velocimétricos, el varicocele subclínico no parece tener efectos en humanos, sin embargo, en pacientes con síntomas clínicos, la perfusión testicular expresada en VMPT es menor que en hombres saludables (Tarhan, *et al.*, 2003). Además, esta alteración puede generar IR elevados en la arteria marginal (Ortega Ferrusola, *et al.*, 2014), valores mayores de velocidad del pico sistólico y de IP en el aspecto convoluto de la arteria testicular (Pozor y McDonnell, 2004).

El **hidrocele** es el acúmulo de líquido seroso en la cavidad vaginal (Monteiro, 2017). Un ligero hidrocele es observado en padrillos con intensa actividad reproductiva sin efectos clínicos en la fertilidad (Ortega Ferrusola, *et al.*, 2014), también durante periodos de alta temperatura ambiental, resolviéndose en temperaturas moderadas (Varner, *et al.*, 1991), sin embargo en casos de hidrocele ligero en humanos, se ha reportado un aumento en el IR e IP (Dudea, *et al.*, 2010). En casos severos, el hidrocele puede producir flujo sanguíneo turbulento en la arteria testicular a nivel del cordón espermático (Pozor y McDonnell, 2004). El acúmulo de líquido en la cavidad vaginal puede generar presiones que induzcan a la atrofia de los testículos (Morresey, 2007). La causa puede ser idiopática o secundaria a trauma, hernia inguinal, torsión testicular u otra condición que disminuya el drenaje venoso o linfático. Puede observarse fibrina en casos infecciosos o traumáticos (Karmazyn, *et al.*, 2006).

Hematocele, es el acúmulo de sangre en la cavidad vaginal usualmente asociado con un trauma del escroto, torsión testicular o posible hemoperitoneo. Ecográficamente es caracterizado por un aumento de sedimento en la cavidad vaginal incluyendo la presencia de bandas de fibrina (Ball, 2008). Cambios en el peso testicular y en la producción espermática han sido reportados probablemente como resultado del aumento de temperatura escrotal asociado (Blanchard, *et al.*, 1996). La degeneración testicular también

puede ocurrir (Morresey, 2007). Situaciones crónicas podrían llevar al desarrollo de adherencias que comprometan la termorregulación del testículo (Tibary y Rodriguez, 2009).

La **degeneración testicular** puede ser definida como un proceso que causa deterioro de la estructura del testículo con la consecuente pérdida de su función (Turner, 2007), puede ser local o difusa y puede afectar uno o ambos testículos (Watson, *et al.*, 1994). Es una causa común de infertilidad adquirida y generalmente es progresiva en padrillos. Los testículos degenerados son blandos, pequeños, y suelen no presentar dolor a la palpación (Edwards, 2008). En caso de un trauma, los anticuerpos anti espermáticos pueden estar involucrados en la subsecuente degeneración (Papa, *et al.*, 1990; Zhang, *et al.*, 1990). Los mejores parámetros velocimétricos para identificar a los padrillos con disfunción testicular crónica, fueron: VPS, VFD, y VMPT (Ortiz Rodriguez, *et al.*, 2017), los cuales se encontraron disminuidos. El IR y el IP se observan aumentados en procesos isquémicos, degenerativos o de atrofia testicular (Jee, *et al.*, 1997; Lefort, *et al.*, 2001; Ekerhovd y Westlander, 2002).

Debido a la escasa información científica respecto a la evaluación de los índices velocimétricos en burros mediante uso de la ecografía Doppler color espectral es que se decide realizar este trabajo.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar las diferencias en los índices velocimétricos de la arteria testicular (AT) en burros domésticos (*equus africanus asinus*) durante la temporada reproductiva y la no reproductiva.

Objetivos específicos

- Habituarse a la metodología y redacción científica.
- Familiarizarse con la ecografía testicular.
- Capacitarse en el uso de la Ultrasonografía Doppler color espectral.
- Obtener los índices de perfusión sanguínea en arteria testicular a nivel supra testicular en el cordón espermático.
- Obtener los índices de perfusión sanguínea en arteria testicular a nivel marginal.
- Establecer la existencia, o no, de diferencias en los índices de perfusión sanguínea en arteria testicular entre temporada reproductiva y no reproductiva.
- Elaborar un informe final.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Animales

Para realizar este trabajo se utilizaron 4 burros adultos de diferentes razas, clínicamente sanos y reproductivamente saludables, de entre 2 y 8 años, y con un peso entre 200 y 350kg. Las pruebas fueron realizadas con los animales en estación, en algunas ocasiones fuera de la manga y en otras ocasiones dentro de la misma (Fig. 16), en ambos casos sin sedación química. El estudio fue realizado en el Laboratorio de Producción Equina de la Universidad Nacional de Río Cuarto. Previo al examen ecográfico, se realizó el examen físico y la exploración reproductiva, de acuerdo a las recomendaciones propuestas por Ball (Ball, 2008), lo cual permite al animal acostumbrarse al examen antes de colocar el transductor y al veterinario identificar anomalías obvias que puedan requerir una atención más detallada (Turner, 2011).

Las mediciones se realizaron en Julio y Noviembre del año 2018, lo cual corresponde a temporada no reproductiva y reproductiva, respectivamente.



Fig. 16: Posicionamiento del padrillo o burro dentro de una manga, la cual debe tener lados abiertos para posibilitar un correcto examen ecográfico.

2. Equipo de ultrasonido

Fue utilizado un ecógrafo portátil Sonoscape® s6 (China) Doppler color, con transductor lineal multifrecuencia (5-10 MHz). El operador encargado de realizar las mediciones fue siempre el mismo.

3. Evaluación ecográfica en modo B

La identificación y evaluación de las estructuras testiculares fue llevada a cabo por medio del modo B de ultrasonografía (escala de grises) en ambos testículos, tal como lo recomienda Ginther y Utt (2004) (Fig. 17 y Fig. 18).

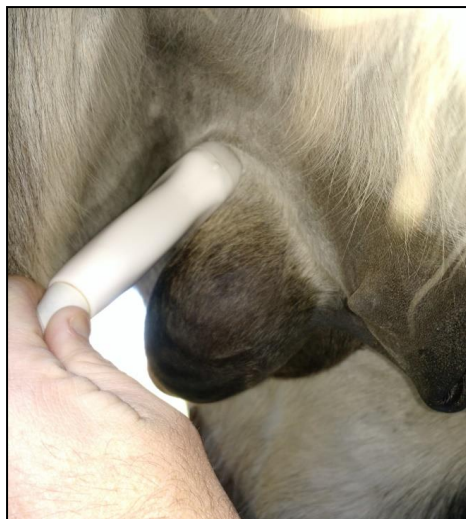


Fig. 17: Forma de posicionar el transductor para observar cordón espermático en corte transversal.



Fig. 18: Imagen ecográfica de la cola del epidídimo (flecha). Las áreas anecoicas corresponden a cortes transversales del conducto epididimario.

4. Evaluación ecográfica en modo Doppler color espectral

En cada burro, sus testículos fueron evaluados utilizando la ecografía Doppler color y luego Doppler espectral, para cuantificar la velocidad del flujo sanguíneo dentro de los vasos (Ginther y Utt, 2004). Se utilizó el tamaño de muestra mínimo (1 mm), y un ángulo de insonación de 20-60° (Pozor y McDonnell, 2004).

En este estudio, la imagen ecográfica tomada fue a nivel del cordón espermático y en el aspecto marginal de la arteria testicular (Fig. 14). Los datos de los índices de resistencia $\{IR = [(VPS - VDF) / VPS]\}$ y de pulsatilidad $\{IP = [(VPS - VDF) / VMPT]\}$, fueron calculados automáticamente por el software del equipo de ultrasonido.

5. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados por estadísticos descriptivos e inferenciales. La comparación de los parámetros velocimétricos entre las regiones de la arteria testicular, entre el testículo izquierdo y derecho, y entre el invierno y el verano fueron evaluados por el test de Student (prueba T) con un nivel de significancia de $P < 0.05$.

RESULTADOS

El examen ecográfico, requirió un promedio de 6 minutos por animal. Al realizar la evaluación ecográfica en modo B no se encontraron anomalías ecográficas en ninguno de los 4 burros, lo cual confirmó la salud reproductiva de los mismos.

Los Índices de Resistencia y Pulsatilidad de la arteria testicular, IR e IP, fueron obtenidos sin dificultad mediante ecografía Doppler espectral, tanto en el cordón espermático, como en su aspecto marginal, durante el invierno y durante el verano. Los valores obtenidos se muestran en la tabla 1.

Tabla 1: Índices velocimétricos de la arteria testicular.

Número de burro	Índices		IR		IP	
			Invierno	Verano	Invierno	Verano
1	TD	MARGINAL	0.32	0.49	0.39	0.73
		CORDÓN	0.77	0.84	1.79	1.88
	TI	MARGINAL	0.29	0.57	0.3	1
		CORDÓN	0.79	0.88	1.76	2.28
2	TD	MARGINAL	0.3	0.4	0.32	0.54
		CORDÓN	0.71	0.89	1.23	2.28
	TI	MARGINAL	0.33	0.66	0.35	1.08
		CORDÓN	0.85	0.84	1.99	1.95
3	TD	MARGINAL	0.26	0.53	0.26	0.74
		CORDÓN	0.89	0.77	2.12	2.14
	TI	MARGINAL	0.65	0.59	1.05	1.01
		CORDÓN	0.82	0.81	1.82	1.98
4	TD	MARGINAL	0.7	0.49	1.41	0.72
		CORDÓN	0.86	0.8	2.25	2.09
	TI	MARGINAL	0.78	0.58	1.85	1.01
		CORDÓN	0.89	0.82	2.83	2.13

IR, índice de resistencia; IP, índice de pulsatilidad; TD, testículo derecho; TI, testículo izquierdo.

En el cordón espermático fueron observadas ondas resistentes bifásicas, con una clara distinción entre las fases sistólica y diastólica (Fig. 14a). Mientras que en la región marginal de la arteria se observaron ondas menos resistentes y monofásicas (Fig. 14b). El pico sistólico fue más evidente en el cordón en comparación con la localización marginal.

Al comparar los valores de IR e IP entre las regiones de la arteria testicular (cordón espermático y marginal), se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en los índices velocimétricos entre testículos derechos e izquierdos, observándose diferencia únicamente en las mediciones del verano para el IP de la arteria marginal entre el testículo derecho y el izquierdo ($P < 0,05$). Al realizar la comparación de dichos índices, entre el invierno (temporada no reproductiva) y el verano (temporada reproductiva) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) (Tabla 2).

Tabla 2: Valores promedios y sus correspondientes desvíos estándares de los índices velocimétricos de la arteria testicular de los 4 burros.

	Testículo derecho		Testículo izquierdo	
	R. Marginal	R. Cordón	R. Marginal	R. Cordón
IR (invierno)	0.39 ± 0.2^{Aa2}	0.8 ± 0.08^{Ba2}	0.51 ± 0.24^{Aa2}	0.83 ± 0.04^{Ba2}
IR (verano)	0.47 ± 0.05^{Aa2}	0.82 ± 0.05^{Ba2}	0.6 ± 0.04^{Aa2}	0.83 ± 0.03^{Ba2}
IP (invierno)	0.59 ± 0.54^{Aa2}	1.84 ± 0.45^{Ba2}	0.88 ± 0.72^{Aa2}	2.1 ± 0.49^{Ba2}
IP (verano)	0.68 ± 0.09^{Aa2}	2.09 ± 0.16^{Ba2}	1.02 ± 0.03^{Ab2}	2.08 ± 0.15^{Ba2}

IR, índice de resistencia; IP, índice de pulsatilidad.

Diferentes letras mayúsculas indican diferencias estadísticamente significativas entre región de la arteria ($P < 0.05$). Diferentes letras minúsculas indican diferencias estadísticamente significativas entre testículos derechos e izquierdos ($P < 0.05$). Diferentes números indican diferencias estadísticamente significativas entre invierno y verano ($P < 0.05$).

DISCUSIÓN

Se observó que las formas de onda del flujo sanguíneo encontradas en los burros de este estudio mediante ecografía Doppler espectral concordaron con los descriptos en padrillos por Pozor y McDonnell (2004), Pozor (2007), y Monteiro (2017). La arteria testicular, mostró en ecografía en modo B un patrón tortuoso en la región del cordón espermático, a diferencia de la región marginal en donde el patrón fue relativamente recto, lo cual concuerdan con lo reportado por Barbosa de Souza *et al.*, en 2014.

Al evaluar, por medio de ecografía Doppler color, el flujo sanguíneo en el cordón espermático presentó una forma de onda resistente y bifásico, mientras que en la región marginal de la arteria testicular, el patrón fue no resistente y monofásico, concordando con lo descrito para padrillos por Ginther (2007), Pozor y McDonnell (2004), Pozor (2007) y para burros por Audap Soubie *et al* (2018). Esto podría deberse a la proximidad de la arteria con la pared abdominal y a que la arteria testicular es relativamente larga y el cordón espermático es relativamente corto en padrillos y burros machos (Pozor y McDonnell, 2004).

En este estudio no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en los índices velocimétricos de la arteria testicular entre la temporada reproductiva y la no reproductiva a pesar de lo reportado por varios autores (Ortega Ferrusola, et al., 2014; McDonnell, 2000; Garcia Calvo y Ortega Ferrusola, datos sin publicar), quienes afirman que la perfusión vascular del testículo aumenta en la temporada reproductiva de los équidos. La explicación de este hallazgo podría deberse al escaso número de burros utilizados en el experimento.

Se obtuvieron valores de IP e IR significativamente menores ($P < 0,05$) en el aspecto marginal de la arteria testicular en ambos testículos, tanto en invierno como en verano, lo cual coincide con lo reportado previamente en padrillos por Pozor y McDonnell (2004), Pozor (2007), Monteiro (2017), en perros por Barbosa de Souza, *et al.* (2014) y en burros Audap Soubie, *et al.* (2018). Mientras que Strina *et al.*, en 2016, reportó que en ciervos no había diferencia entre regiones de la arteria testicular.

En este trabajo se observó diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$) en el IP entre testículos derechos e izquierdos, en la región marginal de la arteria en verano, lo cual no coincide con lo reportado anteriormente para burros por Audap Soubie, *et al* (2018), donde no se observaron diferencias entre testículos derechos e izquierdos; sin embargo, esto puede deberse al escaso número de burros examinados.

Finalmente, los parámetros e índices velocimétricos fueron registrados y calculados respectivamente de manera automática por medio del software del equipo de ultrasonido, lo cual es más sencillo, pero menos exacto que el cálculo manual, esto puede explicar algunas variaciones en los valores obtenidos respecto a los reportados anteriormente para burros por Audap Soubie, *et al.* (2018) y en padrillos por Pozor y McDonnell (2004).

CONCLUSIONES

En base a nuestros resultados podríamos concluir que no se hallaron diferencias significativas en los IR e IP entre testículos derechos e izquierdos, ni entre invierno y verano.

Los índices velocimétricos obtenidos en el cordón espermático fueron mayores que aquellos obtenidos en la región marginal de la arteria testicular de ambos testículos en ambas estaciones del año.

La ultrasonografía Doppler demostró ser una herramienta sencilla y muy útil para la evaluación del flujo sanguíneo de la arteria testicular.

Proyecciones

Futuras investigaciones son necesarias donde se utilice una muestra de burros mayor, con la finalidad de poder hacer inferencias estadísticas poblacionales confiables.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- AMANN R.P., D.L. THOMPSON Jr., E.L. SQUIRES y B.W. PICKETT. 1979. *Effects of age and frequency of ejaculation on sperm production and extragonadal sperm reserves in stallions*. **J Reprod Fertil Suppl.** 27: 1-6p.
- AMANN R.P. 1981. *A review of anatomy and physiology of the stallion*. **J Equine Vet Sci.** 1:83p.
- AMANN R.P. 1987. *Function of the epididymis in bulls and rams*. **J Reprod Fertil Suppl.** 34: 115-131p.
- AMANN R.P. 1988. *Maturation of spermatozoa*. En: **Proceedings of the 11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination**. 320-328p.
- AMANN R.P. 2011. *Functional Anatomy of the Adult Male*. En: **Equine Reproduction**. McKinnon A.O., E.L. Squires, W.E. Vaala y D.D. Varner (editores). 2da edición. Editorial Wiley-Blackwell, Oxford, United Kingdom. Cap. 95. 867- 880p.
- AMANN R.P. 2011. *Physiology and Endocrinology*. En: **Equine Reproduction**. McKinnon A.O., EL. Squires, W.E. Vaala y D.D. Varner (editores). 2da edición. Editorial Wiley-Blackwell, Oxford, United Kingdom. Cap. 96. 881-908p.
- AMSO N.N., S.R.P.N.WATERMEYER, S.D. O'BRIEN y A. D'ANGELO.2001. *Quantification of power Doppler energy and its future potential*. **Fertil Steril.** 76:583-587p.
- AUDAP SOUBIE R.F., G. ALONSO, N. BERTOLA, G. ROMAN GARCIA, C. CASTAÑEIRA, C. ALONSO, M. SALVI, L. LOSINNO. 2018. *Spectral Color Doppler Ultrasound Evaluation of Testicular Vasculature in Donkey Jacks (Equus asinus)*. En: **3er Seminario Internacional de Reproducción Equina**. L. Losinno y M. Pietrani (editores). Santiago, Chile. 237-241p.
- BALL B.A. 2008. *Diagnostic Methods for Evaluation of Stallion Subfertility: A review*. **J Equine Vet Sci.** 28: 650-665p.
- BARBOSA DE SOUZA M., DA C. CUNHA BARBOSA, B. SUCUPIRA PEREIRA, C. BARATTA MONTEIRO, J. NICODEMOS PINTO y J. SPINDOLA LINARES. 2014. *Doppler velocimetric parameters of the testicular artery in healthy dogs*. **J Equine Vet Sci.** 96: 533-536.
- BARDIN C.W. 1989. *Inhibin structure and function in the male*. **Ann N Y Acad Sci.** 564: 102-123p.
- BERGH A. y J.E. DAMBER. 1993. *Vascular controls in testicular physiology*. En: **Molecular Biology of the Male Reproductive System**. De Kretser, D.M. (Editor). Academic Press, New York. 439-468p.

- BERGH A., O. COLLIN y E. LISSBRANT. 2001. *Effects of acute graded reduction in testicular blood flow on testicular morphology in the adult rat.* **Biol Reprod.** 64:13-20.
- BERNDTSON W.E., E.L. SQUIRES y D.L. THOMPSON Jr. 1983. *Spermatogenesis, testicular composition and the concentration of testosterone in the equine testis and the influenced by season.* **Theriogenology.** 20: 449-57p.
- BIAGIOTTI G., G.CAVALLINI y G. MODENINI, *et al.* 2002. *Spermatogenesis and spectral echo-colour Doppler traces from the main testicular artery.* **BJU Int.** 90:903-908p.
- BLANCHARD T.L., D.D. VARNER y S.P. BRINSKO. 1996. *Theriogenology question of the month. Scrotal hematocele.* **J Am Vet Med Assoc.** 209:2013-2014p.
- BLUMER C.G., A.E. RESTELLI, P.T. GIUDICE, T.B. SOLER, R. FRAIETTA, M. NICHI, R.P. BERTOLLA y A.P. CEDENHO. 2012. *Effect of varicocele on sperm function and semen oxidative stress.* **BJU Int.** 109: 259–265p.
- BOYD A., M.A. POZOR, C.S. BAILEY y J. VERSTEGEN. 2006. *Effect of the seasonality on testicular blood flow in mature stallions.* **Anim Reprod Sci.** 94: 144–145p.
- CANISSO IF., MCG. DAVIES MOREL Y S. MCDONNELL. 2009. *Strategies for the management of donkey jacks in intensive breeding systems.* **Equine vet. Educ.** 21: 652-659p
- CARLUCCIO A., S. PANZANI, A. CONTRI, V. BONZO, D. ROBBE, M.C. VERONESI. 2013. *Influence of season on testicular morphometry and semen characteristics in Martina Franca jackasses.* **Theriogenology.** 79:502-507p.
- CARROCCIO A., F. CAVATAIO, G. IACONO. 1999. *Crossreactivity between milk proteins of different animals.* **Clin. Exp. Allergy.** 29:1014–1016p.
- CHIAVARI C., F. COLORETTI, M. NANNI, E. SORRENTINO, L. GRAZIA. 2005. *Use of donkey's milk for a fermented beverage with lactobacilli.* . 85:481-490p.
- CLAY C.M., E.L. SQUIRES, R.P. AMANN y B.W. PICKETT. 1987. *Influences of season and artificial photoperiod on stallions: Testicular size, seminal characteristics and sexual behavior.* **J Anim Sci.** 64: 517-525p.
- CLAY C.M. 1988. *Influences of season and artificial photoperiod on reproduction in stallions.* **PhD testis**, Fort Collins, Colorado State University.
- CLAY C.M., E.L. SQUIRES, R.P. AMANN y T.M. NETT. 1988. *Influences of season and artificial photoperiod on stallions: Luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and testosterone.* **J Anim Sci.** 66: 1246-1255p.
- CLAY C.M., E.L. SQUIRES, R.P. AMANN y T.M. NETT. 1988. *Influences of season and artificial photoperiod on stallions: pituitary and testicular responses to exogenous GnRh.* **J Anim Sci.** 67: 763-770p.

- COSTA FARRÉ C., X. SALA BLANCH, J.I. CRUZ y J. FRANCH. 2011. **The Veterinary Journal**. Vol 187: 221-224p.
- DE KRESTA D.M. y KERR J.B. 1988. *The cytology of the testis*. **The Physiology of Reproduction**. Knobil E., Neill J. (editores). Nueva York. 837-932p.
- DOUGLAS R.H. y N. UMPHENOUR. 1992. *Endocrine abnormalities and hormonal therapy*. **Vet Clin North Am Equine Pract**. 8(1):237-49p.
- DUBINSKY T., P. CHEN y N. MAKLAD. 1998. *Color-flow and power Doppler imaging of the testes*. **World J Urol**. 16:35-40p.
- DUDEA S.M., A. CIUREA, A. CHIOREAN y C. BOTAR J.I.D. 2010. *Doppler applications in testicular and scrotal disease*. **Med Ultrason**. 12: 43-51p.
- EDWARDS J.F. 2008. *Pathologic conditions of the stallion reproductive tract*. **Anim Reprod Sci**. 107: 197-207p.
- EKERHOVD E. y G. WESTLANDER. 2002. *Testicular sonography in men with Klinefelter syndrome shows irregular echogenicity and blood flow of high resistance*. **J Assit Reprod Genet**. 19:517-522p.
- FARRIOL V.G., X.P. COMELLA, E.G. AGROMAYOR, *et al*. 2000. *Grey-scale and power Doppler sonographic appearances of acute inflammatory diseases of the scrotum*. **J Clin Ultrasound**. 28:67-72p.
- GRACIA CALVO LA, J. DUQUE, C. BALAO DA SILVA, J. EZQUERRA, C. ORTEGA-FERRUSOLA. 2015. *Testicular perfusion after standing laparoscopic peritoneal flap hernioplasty in stallions*. **Theriogenology**. 84(5):797-804p.
- GASTAL M.O., M. HENRY, A.R. BECKER, *et.al*. 1996. *Sexual behavior of donkey jacks: influence of ejaculatory frequency and season*. **Theriogenology**. 46: 593-603p.
- GEBAUER M.R., B.W. PICKETT y E.E. SWIERSTRA. 1974. *Reproductive physiology of the stallion. III. Extragonadal transit time and sperm reserves*. **J Anim Sci**. 39: 737-742p.
- GINTHER O.J y M.D. U.T.T. 2004. *Doppler Ultrasound in equine reproduction: principles, techniques and potential*. **J Equine Vet Sci**. 24(12):516-526p.
- GINTHER O.J. 2007. *Color-Doppler ultrasonography*. En: **Ultrasonic Imaging and animal reproduction**. Ed. Equiservices Publishing, Wisconsin. 217-222p.
- GLOVER T.D. y L.NICANDER. 1971. *Some aspects of structure and function in the mammalian epididymis*. **J Reprod Fertil Suppl**. 13: 39-50p.

- GÓRECKA S.Z.Y.L.D B. 1999. *Assessing the value of colour Doppler ultrasound investigations in diagnostics of most frequently occurring diseases of scrotal pouch.* **Ann Acad Med Stetin.** 45:227-237p.
- GORDON S.J., S. CAMPBELL, J. BHARDWA, *et al.* 2003. *Spermatogenesis and spectral echo-colour Doppler traces from the main testicular artery.* **BJU Int.** 90:897-898p.
- GRINDER MI., KRAUSMAN PR., HOFFMANN RS. 2006. *Equus asinus.* **American Society of Mammalogists.** Mammalian species. Número 794. 1-9p.
- GUMBSCH P., C. GABLER y A. HOLTZMANN. 2002. *Colour-coded duplex sonography of the testes of dogs.* **Vet Rec.** 151:140-144p.
- HEMEIDA N.A., W.O. SACK y K. MC ENTEE. 1892. *Ductuli efferentes in the epididymis of the boar, goat, tam, bull, and stallion.* **Am J Vet Res.** 39: 1892-1900p.
- HERBENER T.E. 1996. *Ultrasound in the assessment of the acute scrotum.* **J Clin Ultrasound.** 24:405-421p.
- HORSTMAN W.G., W.D. MIDDLETON, G.L. MELSON y B.A. SIEGEL. 1991. *Color Doppler US of the scrotum.* **Radiographics.** 11: 941–957; discussion 958.
- HORSTMAN W.G., G.L. MELSON, W.D. MIDDLETON, *et al.* 1992. *Testicular tumors: findings with color Doppler US.* **RSNA.** 185:733-737p.
- IACONO G., A. CARROCCIO, F. CAVATAIO, G. MONTALDO, M. SORESI, V. BALSAMO. 1992. *Use of ass's milk in multiple food allergy.* **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.** 14: 177–181p.
- IONATA L.M., T.M. ANDERSON, B.W. PICKETT, J.C. HEIRD, E.L. SQUIRES. 1991. *Effect of supplementary sexual preparation on semen characteristics of stallions.* **Theriogenology.** 36:923-937p.
- IPPENSEN E., C. KIUG SIMON y E. KLUG. 1972. *Der Verlauf der Blutgefasse vom loden des Pferdes im Hinblick auf eine Biopsiemöglichkeit.* **Zuchthygiene.** 1: 337-362p.
- JANETT F., R. THUN, K. NIEDERER, D. BURGER, M. HASSIG. 2003. *Seasonal changes in semen quality and freezability in the Warmblood stallion.* **Theriogenology.** 60:453-461p.
- JANETT F., R. THUN, BETTSCHEN S., D. BURGER, M. HASSIG. 2003. *Seasonal changes of semen quality and freezability in Franches-Montagnes stallions.* **Theriogenology.** 77:213-221p.
- JAROW J.P. 2001. *Effect of varicocele on male fertility.* **Hum Reprod Update.** 7:59-64p.
- JEE W.H., B.Y. CHOE, J.Y. BYUN, K.S. SHINN y T.K. HWANG. 1997. *Resistive index of the intrascrotal artery in scrotal inflammatory disease.* **Acta Radiol.** 38:1026-1030.

- JOHNSON L., R.P. AMANN y B.W. PICKETT. 1978. *Scanning electron microscopy of the epithelium and spermatozoa in the equine excurrent duct system*. **Am J Vet Res.** 39: 1428-1434p.
- JOHNSON L. y THOMPSON Jr D.L. 1983. *Age- related and seasonal variation in the Sertoli cell population, daily sperm production and serum concentrations of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone and testosterone in stallions*. **Biol Reprod.** 29: 777-89p.
- JOHNSON L. 1986. *A new approach to quantification of Sertoli cells that avoids problems associated with the irregular nuclear surface*. **Anat Rec.** 214: 231-7p.
- JOHNSON L. y H.B. NGUYEN. 1986. *Annual cycle of the Sertoli cell population in adult stallions*. **J Reprod Fertil.** 76: 311-316p.
- JOHNSON L. y M.E. TATUM. 1988. *Sequence of seasonal changes in numbers of Sertoli, Leydig, and germ cells in adult stallions*. En: **Proceedings of the 11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination.** 373p.
- KARMAZYN B., R. STEINBERG, P. LIVNE, L. KORNREICH, S. GROZOVSKI, M. SCHWARZ, N. ZIV y E. FREUD. 2006. *Duplex sonographic findings in children with torsion of the testicular appendages: overlap with epididymitis and epididymoorchitis*. **J Pediatr Surg.** 41: 500–504p.
- KASS E.J., B.R. STORK y B.W. STEINERT. 2001. *Varicocele in adolescence induces left and right testicular volume loss*. **BJU Int.** 87:499-501.
- KAVAK A., N. LUNDEHEIM, M. AIDNIK y S. EINARSSON. 2003. *Testicular measurements and daily sperm output of Tori and Estonian breed stallions*. **Reprod Domest Anim.** 38: 167–169p.
- KAY G.W., J.A. GROBBELAAR y J. HATTINGH. 1992. *Effect of surgical restriction of growth of the testicular artery on testis size and histology in bulls*. **J Reprod Fertil.** 96: 549–553p.
- KNICKERBOCKER J.J., H.R. SAWYER, R.P. AMANN, F.R. TEKPETEY y G.D. NISWENDER. 1988. *Evidence for the presence of oxytocin in the ovine epididymis*. **Biol Reprod.** 39: 391-397p.
- KRZANOWSKI M. y A. PLICHTA (editores). **Atlas of Vascular Ultrasonography**. Krakow, Medycyna Praktyczna, 2000.
- LEFORT C., D. THOUMAS, Y. BADACHI, F. GOBET, C. PFISTER, J.N. DACHER y M. BENOZIO. 2001. *Ischemic orchiditis: review of 5 cases diagnosed by color Doppler ultrasonography*. **J Radiol.** 82: 839–842p.
- LITTLE T.V. y C. REED HOLYOAK. 1992. *Reproductive anatomy and physiology of the stallion*. **Vet Clin North Am Equine Pract.** 92:0749-0739p.

- LOVE C.C., M.C. GARCIA, F.R. RIERA y R.M. KENNEY. 1991. *Evaluation of measures taken by ultrasonography and caliper to estimate testicular volume and predict diary sperm output in the stallion.* **J Reprod Fertil Suppl.** 44: 99-105p.
- LOVE C.C. 1992. *Ultrasonographic evaluation of the testis, epididymis, and spermatic cord of the stallion.* **Vet Clin North Am Equine Pract**, vol.1. 167-182p.
- MAGISTRINI M., P. CHANTELOUBE y E. PALMER. 1987. *Influence of season and frequency of ejaculation on production of stallion semen for freezing.* **J Reprod Fertil Suppl.** 35: 127–133p.
- MANN T. y C. LUTWAK-MANN.1981. *Male Reproductive Function and Semen.* Berlin: Springer- Verlag.
- MCDONNELL S.M. 2000. *Reproductive behavior of stallions and mares: comparison of free-running and domestic in-hand breeding.* **Anim Reprod Sci.** 60–61, 211–219p.
- MCKINNON A.O. 2010. *Exames para avaliação da fertilidade do garanhão.* **Braz J Equine Med.** 29: 112-129p.
- MIDDLETON W.D., D.A. THORNE y G.L. MELSON. 1989. *Color Doppler ultrasound of the normal testis.* **AJR Am J Roentgenol.** 152: 293–297p.
- MILLAN VALENCIA A. 2017. *Elijao, la exotica gelatin medicinal china que “pone en peligro a los burros como especie”.* En: www.bbc.com/mundo/noticias-39342798. Consultado: 19/12/2018.
- MIRAGAYA M., D. NEILD, A. ALONSO. 2017. *A review of reproductive biology and biotechnologies in donkeys.* **Journal of Equine Veterinary Science.** doi: 10.1016/j.jevs.2017.12.005.
- MOLKENTIN J. 1999. *Bioactive lipids naturally occurring in bovine milk.* **Nährung.** 43:185–189p.
- MONKS KLERON. 2016. *¿Por qué China está comprando la población global de burros?* En: www.cnn.espanol.cnn.com/2016/09/29/por-que-china-esta-comprando-el-suministro-global-de-burros/. Consultado: 19/12/2018.
- MONTEIRO G.A. 2017. *Ultrasound applied to the breeding soundness examination in stallions.* **Bras. Reprod. Anim.** 41: 157-168.
- MORRESEY P.R. 2007. *The enlarged scrotum.* **Clin Tech Equine Pract.** 6:265-270p.
- NASCIMENTO E.F., R.L. SANTOS y J.F. EDWARDS. 2011. *Sistema reproductor masculino.* En: **Patología Veterinaria.** Santos R.L. & Alessi A.C. (Editores). São Paulo: Roca. 855-880p.

- NOWICKI A (editor): *Ultrasound diagnostics*. En: **Ultrasonografia Praktyczna**. vol 12, Gdansk 2000.
- NUWER RACHEL. 2018. *China arrasa con los burros de África, Balancear el yin y el yang*. En: <https://www.pressreader.com/argentina/la-nacion/20180404/281938838479508>. Consultado: 19/12/2018.
- OGUZKURT P., D.H. OKUR, F.C. TANYEL, N. BÜYÜKPAMUKÇU y A. HIÇSÖNMEZ. 1998. *The effects of vasodilation and chemical sympathectomy on spermatogenesis after unilateral testicular torsion: a flow cytometric DNA analysis*. **Br J Urol**. 82:104-108.
- ORTIZ RODRIGUEZ J.M., L. ANEL LOPEZ, P. MARTÍN MUÑOZ, M. ÁLVAREZ, G. GAITSKELL PHILLIPS, L. ANEL, P. RODRÍGUEZ MEDINA, F.J. PEÑA y C. ORTEGA FERRUSOLA. 2017. *Pulse Doppler ultrasound as a tool for the diagnosis of chronic testicular dysfunction in stallions*. **PLoS ONE**. 12(5): 1-21p.
- ORTEGA FERRUSOLA C., L.A. GRACIA CALVO, J. EZQUERRA y F.J. PENA. 2014. *Use of Colour and Spectral Doppler Ultrasonography in Stallion Andrology*. **Reproduction in Domestic Animals**. 49:88–96p.
- OYEN R.H. 2002. *Scrotal ultrasound*. **Eur Radiol**. 12: 19–34p.
- ORTEGA FERRUSOLA C., J.M. ORTIZ RODRIGUEZ, P. RODRIGUEZ MEDINA, P. MERTIN MUÑOZ, M. ALVAREZ, F.J. PEÑA y L. ANEL. 2016. *(Pulse) Doppler ultrasound as a predictive tool for semen quality of stallions*. **J Equine Vet Sci**. 43: S56-S82.
- PACCAMONTI D.L., A.V. BUITEN, J.M. PARLEVLIEET y B. COLENBRANDER. 1999. *Reproductive parameters of miniature stallions*. **Theriogenology**. 51: 1343–1349p.
- PADUCH D.A y J. NIEDZIELSKI. 1997. *Repair versus observation in adolescent varicocele: a prospective study*. **J Urol**. 158:1128-1132.
- PALGRAVE K. y J.A. KIDD. 2014. *Modo B y ecogenicidad*. En: **Atlas of equine ultrasonography**. Kidd JA., KG. Lu, ML. Frazer (editores). Editorial John Wiley & Sons, Ltd. Sussex occidental, United Kingdom. Cap. Introducción. 3-4p.
- PALGRAVE K.y J.A. KIDD. 2014. *Doppler Imaging*. En: **Atlas of equine ultrasonography**. Kidd J.A., K.G. Lu, M.L. Frazer (editores). Editorial John Wiley & Sons, Ltd. Sussex occidental, United Kingdom. Cap. Introducción. 18-21p.
- PAPA F.O., M.A. ALVARENGA, M.D. LOPES y E.P. CAMPOS FILHO. 1990. *Infertility of autoimmune origin in a stallion*. **Equine Vet. J**. 22: 145–146p.
- PAVLICA P. y L. BAROZZI. 2001. *Imaging of the acute scrotum*. **Eur Radiol**. 11:220- 228p.
- PERKINS N.R. y FRAZER G.S. 1994. *Reproductive emergencies in the stallion*. **Vet Clin North Am Equine Pract**. Vol 10, N°3, 641-683p.

- PICKERING B.T., S.D. BIRKETT, S.E. BULDENAAR, H.D. NICHOLSON, R.T. WORLEY y L. YAVACHEV. 1989. *Oxytocin in the testis: what, where and why?* **Ann N Y Acad Sci.** 564:198.
- PICKETT B.W, *et al.* 1988. *Seminal characteristics and total scrotal width (T.S.W) of normal and abnormal stallions.* **34ava Convención Anual de la Asociación Americana de Practicantes Equinos.** 487-518p.
- PINGGERA G.M, M. MITTERBERGER, G. BARTSCH, H. STRASSER, J. GRADL, F. AIGNER, *et al.* 2008. *Assessment of the intratesticular resistive index by colour Doppler ultrasonography measurements as a predictor of spermatogenesis.* **BJU international.** 101(6):722–726p.
- POLIDORI P., S. VINCENZETTI, C. CAVALLUCCI, D. BEGHELLI. 2008. *Quality of donkey meat and carcass characteristics.* **Meat Science.** 80: 1222–1224p.
- POLIDORI P., D. BEGHELLI, P. MARIANI Y S. VINCENZETTI. 2009. *Donkey milk production: state of the art.* **Ital.J.Anim.Sci.** vol. 8 (Suppl. 2), 677-683p.
- POZOR M.A. y S. MCDONELL. 2002. *Doppler ultrasound measures of testicular blood flow in stallions.* **Theriogenology.** 58: 437-440p.
- POZOR M.A. y S.M. MCDONELL. 2004. *Color Doppler ultrasound evaluation of testicular blood flow in stallions.* **Theriogenology.** 61: 799-810.
- POZOR M.A. 2007. *Evaluation of Testicular Vasculature in Stallions.* **Clin. Tech. Equine. Pract.** 6: 271-277p.
- POZOR M.A, J. MUEHLHAUS, A. KING, M.L. MACPHERSON, M.H. TROEDSSON y C.S. BAILEY. 2011. *Effect of pentoxifylline treatment on testicular perfusion and semen quality in Miniature horse stallions.* **Theriogenology.** 76 (6):1027–1035p.
- POZOR M.A, M. NOLIN, J. ROSER, S. RUNYON, M.L. MACPERSON y A. KELLEMAN. 2014. *Doppler index of vascular impedance as indicator of testicular dysfunction in stallions.* **J Equine Vet Sci.** 34: 38-39p.
- PUGH DG. 2002. *Donkey reproduction.* **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP.** 113-114p.
- SALIMEI, E., F. FANTUZ, R. COPPOLA, B. CHIOFALO, P. POLIDORI, & G. VARISCO. 2004. *Composition and characteristics of ass's milk.* **Animal Research.** 53: 67–78.
- SCHURICH M., F. AIGNER, F. FRAUSCHER y L. PALLWEINL 2009. *The role of ultrasound in assessment of male fertility.* **European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology.** 144 Suppl 1:S192–198p.
- SETCHELL B.P. 1978. *The mammalian testis.* Ithaca: NY: Cornell University Press.

- SETCHELL B.P. y D.E. BROOKS. 1988. Anatomy, vasculature, innervation and fluid son the male reproductive tract. En: **The Physiology of Reproduction**. Knobil E., Neill J. (editores). Nueva York. 753-836p.
- SETCHELL B.P. 1990. *Local control of testicular fluids*. **Reproduction Fertility and Development**. 2: 291–309p.
- SHARPE R.M. 1988. *Endocrinology and paracrinology of the testis*. En: **Physiology and toxicology of male reproduction**. London, Academic. Lamb J.C Foster PMD (editores). 71p.
- SIDHU P.S. 1999. *Clinical and imaging features of testicular torsion: role of ultrasound*. **Clin Radiol**. 54:343-352p.
- SKINNER M.K.1991. *Cell-cell interactions in the testis*. **Endocr Rev**. 12:45p.
- SMITH, D. G., Y RA. PEARSON. 2005. *A review of the factors affecting the survival of donkeys in semi-arid regions of Sub-Saharan Africa*. **Tropical Animal Health and Production**. 37(suppl. 1): 1–19p.
- SRIPRASAD S., G.G. KOOIMAN, G.H. MUIR, *et al.* 2001. *Acute segmental testicular infarction: differentiation from tumor using high frequency colour Doppler ultrasound*. **Br J Radiol**. 74:965-967p.
- STICKLE R.L. y J.F. FESSLER. 1978. *Retrospective study of 350 cases of equine cryptorchidism*. **S Am Vet Med Assoc**. 6: 172-343p.
- STRINA A., A. CORDA, S. NIEDDU, G. SOLINAS, M. LILLIU y M. ZEDDA. 2016. *Annual variations in resistive index (RI) of testicular artery, volumes measurements and testosterone levels in bucks*. **Comp. Clin. Pathol**. 25: 409-413
- STICKLE R.L. y J.F. FESSLER. 1978. *Retrospective study of 350 cases of equine cryptorchidism*. **S Am Vet Med Assoc**. 6: 172-343p.
- SULLIVAN J.J. y B.W. PICKETT. 1975. *Influence of ejaculation frequency of stallions on characteristics of semen and output of spermatozoa*. **J Reprod Fertil Suppl**. 29–34p.
- SWIERSTRA E.E., B.W. PIRKETT y M.R. GEBAUER. 1975. *Spermatogenesis and duration of transit of spermatozoa through the excurrent ducts of stallions*. **J Reprod Fertil Suppl**. 23: 53-57p.
- TARHAN F., E. ERBAY, E. ERDOGAN, *et al.* 2000. *Effects of unilateral testicular torsion on the blood flow of contralateral testis*. **Acan J Urol Nephrol**. 34:29-232p.
- TARHAN S., B. GUMUS, I. GUNDUZ, *et al.* 2003. *Effect of varicocele on testicular artery blood flow in men: color Doppler investigation*. **Scand J Urol Nephrol**. 37:38-42p.
- THOMPSON Jr D.L., B.W. PICKETT, E.L.SQUIRES y T.M. NETT. 1979. *Effect of testosterone and stradiol-17 β alone and in combination on LH and FSH concentrations in blood*

- serum and pituitary of geldings and in serum after administration of GnRH. Biol Reprod.* 21: 1231-1237p.
- THOMPSON Jr D.L., B.W. PICKETT, E.L. SQUIRES y R.P. AMANN. 1979. *Testicular measurements and reproductive characteristics in stallions. J Reprod Fertil Suppl.* 27: 13-17p.
 - THOMPSON Jr D.L., St. R.L. GEORGE, L.S. JONES y F. GARZA Jr. 1985. *Patterns of secretion of luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and testosterone in stallions during the summer and winter. J Anim Sci.* 60: 741-748p.
 - THOMPSON Jr D.L., L. JOHNSON, St. R.L. GEORGE y F. GARZA Jr. 1986. *J Concentration of prolactin, luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in pituitary and serum of horses: effect of sex, season and reproductive state. Anim Sci.* 63: 854-860p.
 - THRELFALL W.R., C.L. CARLETON, J. ROBERTSON, T. ROSOL y A. GABEL. 1990. *Recurrent torsion of the spermatic cord and scrotal testis in a stallion. J Am Vet Med Assoc.* 196: 1641-1643p.
 - TIBARY A., A. SGHIRI, M. BAKKOURY, C. FITE. 2006. *Reproductive patterns in donkeys. Proceedings of the 9th International Congress of World Equine Veterinary Association.*
 - TIBARY A. y J.S. RODRIGUEZ. 2009. *Causes and management of subfertility in stallions.* En: **I Congreso Argentino de Reproducción Animal.** Hipódromo de San Isidro, Buenos Aires, Argentina. 1-8p.
 - TIBARY A. y L.K. PEARSON. 2015. *Reproductive emergencies in the stallion.* En: **Primer Congreso de la Sociedad Latinoamericana de Reproducción Animal.** L. Losinno y M. Miragaya (Editores). 127-139p.
 - TURNER R.M. 1998. *Ultrasonography of the genital tract of the stallion.* En: **Equine Diagnostic Ultrasound.** Reef VB (editor). WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania. 446-479p.
 - TURNER R.M. 2007. *Pathogenesis, Diagnosis, and Management of Testicular Degeneration in Stallions. Clin Tech Equine Pract.* 6:278-284p.
 - TURNER R.M. 2011. *Ultrasonography of the genital tract.* En: **Equine Reproduction.** McKinnon A.O., E.L. Squires, W.E. Vaala y D.D. Varner (editores). 2da edición. Editorial Wiley-Blackwell, Oxford, United Kingdom. Cap. 151. 1469-1487p.
 - VARNER D.D., J. SCHUMACHER, T.L. BLANCHARD y L. JOHNSON. 1991. *Diseases and management of breeding stallions.* Goleta, CA: **American Veterinary Publications.**
 - VAUGHAN B., M.B. WHITCOMB, S.M. PRATT y S.J. SPIER. 2004. *Ultrasonographic appearance of abdominal organs in 14 horses with systemic Corynebacterium pseudotuberculosis infection. Proc. Am. Ass. equine Practnrs.* 50: 63-68p.

- VIDAL LIY M. 2016. *China importa millones de burros para usarlos en la medicina tradicional*. En: https://elpais.com/economia/2016/10/06/actualidad/1475775231_389146.html. Consultado: 19/12/2018.
- VIGUERAZ R.M., G. REYES, J. ROJAS CASTANEDA, *et al.* 2004. *Testicular torsion and its effects on the spermatogenic cycle in the contralateral testis of the rat*. **Lab Anim.** 38: 313-320p.
- VINCENZETTI S., P. POLIDORI, F. FANTUZ, P.L. MARIANI, N. CAMMERTONI, A. VITA, F. POLIDORI. 2005. *Donkey's milk caseins characterization*. **Ital. J. Anim. Sci.** 4(Suppl. 2):427-429p.
- VINCENZETTI S., P. POLIDORI, A. VITA. 2007. *Nutritional characteristics of donkey's milk protein fraction*. En: **Protein Research Trends**. J.R. Ling (editor). Editorial Nova Science Publishers. New York, USA, 207-225p.
- VINCENZETTI, S., P. POLIDORI, P. MARIANI, N. CAMMERTONI, F. FANTUZ, & A. VITA. 2008. *Donkey's milk protein fractions characterization*. **Food Chemistry**. 106: 640–649.
- WATSON E.D., C.J. CLARKE, R.W. ELSE, *et al.* 1994. *Testicular degeneration in 3 stallions*. **Equine Vet J.** 26:507-510p.
- WEBER J. y G. WOODS. 1991. *A technique of transrectal ultrasonography of stallions during ejaculation*. **Theriogenology**. 36: 831-836p.
- WEIDNER W., A. PILATZ y B. ALTINKILIC. 2010. *Andrology: varicocele: an update*. **Urology A.** 49(Suppl 1): 163–165p.
- WIELGOS M., L. BABLOK, S. FRACKI, *et al.* 1998. *Doppler flow measurements in testicular artery of aging males*. **Gin Pol.** 69:537-540p.
- ZELLI R., A. TROISI, A. ELAD NGONPUT, L. CARDINALI y A. POLISCA. 2013. *Evaluation of testicular artery blood flow by Doppler ultrasonography as a predictor of spermatogenesis in the dog*. **Research in veterinary science**. 95(2):632–637p.
- ZHANG J., S.J. RICKETTS y S.J. TANNER. 1990. *Antisperm antibodies in the semen of a stallion following testicular trauma*. **Equine Vet. J.** 22: 138–141p.
- ZWIEBEL W.J. 2000. *Introduction to vascular ultrasonography*. **Philadelphia: W. B. Saunders Company**.