

Uso da ultrassonografia Doppler no diagnóstico de subfertilidade em Garanhões *The use of Doppler ultrasonography on the diagnostic of subfertility in stallions*

Gabriel Augusto Monteiro^{1*}, Deborah Freitas Silva¹

¹Centro de Diagnóstico e Biotecnologia Animal (CERAN), FMVZ-UNESP, Botucatu, SP, Brasil

Resumo

As injúrias vasculares testiculares afetam diretamente a produção e a qualidade das células espermáticas, portanto, o diagnóstico rápido dessas alterações é de extrema importância para evitar danos irreversíveis à reprodução. Desse modo, a ultrassonografia Doppler têm se mostrado um método eficaz no diagnóstico precoce de afecções reprodutivas relacionadas com distúrbios na perfusão sanguínea testicular. Além disso, possibilita o acompanhamento de tratamentos em curso, a fim de melhorar resultados terapêuticos e proporcionar melhor previsão de fertilidade aos garanhões. O objetivo dessa revisão é apresentar as aplicações da ultrassonografia Doppler na avaliação andrológica em garanhões.

Palavras-chaves: andrologia, vascular, equinos, ultrassom e subfertilidade.

Abstract

Vascular injuries in the testicle directly affect the production and quality of spermatic cells, for this reason, a rapid diagnostic is extremely important to avoid irreversible lesions to the reproduction system. Doppler ultrasound is efficient in the early diagnosis of reproductive lesions caused by testicular vascular perfusion disorders. It also allows treatment monitoring which enables improved results and a better fertility outcome previsibility. The objective of the present revision is to present Doppler ultrasound applications on the reproductive evaluation in stallions.

Palavras-chaves: andrology, vasculature, equine, ultrasound and subfertility.

Introdução

A ultrassonografia em modo B (escala de cinza) é um método diagnóstico não invasivo que fornece importantes informações sobre a arquitetura interna de órgãos. A ultrassonografia do trato reprodutivo de garanhões é uma excelente ferramenta no diagnóstico de inúmeras afecções como granuloma espermático, epididimite (Held et al., 1990), criptorquidismo (Love, 1992), varicocele, estruturas císticas do epidídimo, aumento da espessura da túnica vaginal (Pozor, 2007) e neoplasias testiculares (Hunt et al., 1990).

A ultrassonografia Doppler surgiu com o objetivo de permitir exames mais detalhados de órgãos e transmitir informações sobre a hemodinâmica dos vasos sanguíneos (Carvalho et al., 2008). Na andrologia, o Doppler está sendo aplicado para avaliar a perfusão testicular (Pozor & McDonnell, 2004), que está intimamente ligada com o bom funcionamento dos testículos e epidídimos, possibilitando o diagnóstico de suas patologias (Guenzel-Apel et al., 2001). A identificação precoce da origem do distúrbio e o tratamento rápido evita a instalação de processos degenerativos e irreversíveis (Turner 2007). Nesse contexto, a ultrassonografia Doppler amplifica a capacidade de diagnóstico e de monitoramento da resposta à tratamentos, por meio do status da perfusão testicular, com consequente melhoria do prognóstico à fertilidade dos garanhões (Pozor et al., 2014; Ortega-Ferrusola et al., 2014; Ortiz-Rodriguez et al., 2017).

Apesar da ultrassonografia Doppler ser um método eficiente em diagnosticar diversas alterações, poucos veterinários a utilizam por falta de conhecimento das aplicações na avaliação indireta da função testicular. Nesse sentido, o objetivo com esta revisão é descrever as aplicações da ultrassonografia Doppler na avaliação da função testicular e diagnóstico de subfertilidade em garanhões.

Anatomia dos testículos, epidídimos e funículos espermáticos

Os garanhões possuem dois testículos localizados na região inguinal, orientados longitudinalmente no eixo horizontal com um cordão espermático localizado cranio-dorsal (Love, 1992; Turner, 1998). O

*Correspondência: gabriel.a.monteiro@unesp.br

Recebido: 29 de abril de 2023

Aceito: 25 de maio de 2023

fúnculo espermático é recoberto pela túnica albugínea e contém a artéria testicular, plexo pampiniforme e ducto deferente (Figura 1).

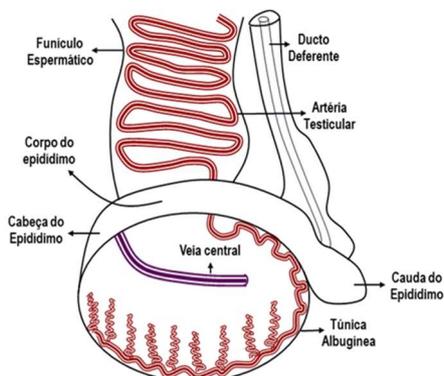


Figura 1. Representação esquemática do testículo, epidídimo e fúnculo espermático no garanhão

A artéria testicular se origina da aorta abdominal e se alonga para acompanhar a migração do testículo para o escroto, apresentando-se altamente convoluta (Setchell, 1970). Após o trajeto pelo cordão espermático, a artéria testicular apresenta um trajeto sinuoso sob a túnica albugínea, atingindo primariamente a borda epididimária cranial, segue pelo corpo do epidídimo no plano medial ou lateral no sentido da extremidade caudal do órgão, cede numerosos ramos mediais e laterais para a região mediastinal (Pozor, 2001), e retorna ao plexo pampiniforme do cordão espermático para o abdome (Turner, 1998). A veia central por sua vez, tem início no centro da região caudal do testículo, segue crânio-dorsalmente e, após atravessar a túnica albugínea, emite ramificações que formam o plexo pampiniforme, sendo responsável por drenar o sangue dos testículos (Love, 1992). A imagem ultrassonográfica das artérias no modo B é anecóica, enquanto as veias possuem uma aparência mais hipocóica. A veia central é encontrada na seção transversal como uma região circular hipocóica e quando em seção longitudinal, é vista como uma linha ondulada. Já as veias do plexo pampiniforme têm diâmetros muito pequenos e não são facilmente identificadas (Pozor, 2007).

O epidídimo é um órgão alongado, enovelado, localizado na superfície do testículo (Sullivan et al., 2005). Ele pode ser dividido anatomicamente em três segmentos: cabeça, intimamente ligada à região crânio-dorsal do testículo; corpo, que se encontra horizontalmente disposto na superfície dorso-lateral do testículo; cauda, seguida por um ducto epididimário com a forma cilíndrica que se estende na região caudal do testículo (Love, 1992). O ducto deferente é uma continuação do ducto da cauda do epidídimo (Turner, 1998).

A túnica albugínea é uma forte cápsula fibrosa que está intimamente associada com a superfície do testículo. Os septos que se estendem no parênquima, a partir do interior da cápsula, não juntam para formar um mediastino visivelmente distinto (Dyce et al., 2004). Por isso, no garanhão não é possível a distinção do mediastino testicular presente em outras espécies (Cartee et al., 1986; Eilts e Pechman, 1988).

A túnica vaginal visceral está intimamente justaposta à túnica albugínea em torno do testículo, epidídimo e fúnculo espermático. A próxima camada externa é a túnica vaginal parietal que é a continuação do peritônio parietal. Entre estas duas camadas vaginais existe uma pequena quantidade de líquido peritoneal (Turner, 1998).

Ultrassonografia dos testículos, epidídimos e fúnculos espermáticos

Para a realização do exame, o transdutor transretal linear é mais adequado, pois facilita o acesso aos testículos na região inguinal entre os membros posteriores. A ultrassonografia no modo B fornece uma análise estrutural do órgão e é aplicada em estudos da anatomia, ecogenicidade, textura e mensuração do volume testicular (Schurich et al., 2009), além de servir como plano de fundo para a representação colorida da perfusão sanguínea a partir da avaliação Doppler (Ginther, 2004).

Ultrassonografia Modo B

O exame ultrassonográfico desta região normalmente é realizado com o animal em estação com transdutor linear de 5.0 ou 7.5MHz (Turner, 1998). O fúnculo espermático é facilmente visualizado com a

probe na posição horizontal (Figura 2). O plexo pampiniforme apresenta-se como uma imagem manchada heterogênea, e a artéria testicular é identificada em cortes (Chenier, 2009) com aspecto de queijo suíço (Love, 1992).

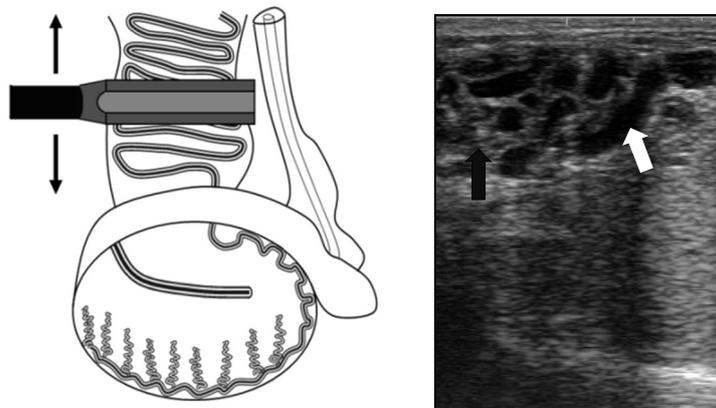


Figura 2.– O esquema à esquerda demonstra como o transdutor linear (5 MHz de frequência) foi colocado para avaliação do funículo espermático. Na imagem ultrassonográfica (direita) a artéria testicular é identificada como estruturas anecóicas em cortes (seta branca), e o plexo pampiniforme como uma estrutura heterogênea envolvendo a artéria (seta preta).

A cauda do epidídimo é identificada quando o transdutor é colocado aspecto caudal ao testículo com os feixes voltados na direção cranial. O lúmen do ducto epididimário pode ser visualizado na cauda do epidídimo, devido ao seu maior tamanho nesse local. A textura do epidídimo varia de anecóica para hipocóica com relação ao parênquima testicular (Turner, 1998). Em certas posições é possível visualizar ramos da artéria testicular (Figura 3), sendo esses vasos maiores e mais proeminentes próximo à cauda do epidídimo. O parênquima testicular normal possui textura homogênea (Love, 1992).

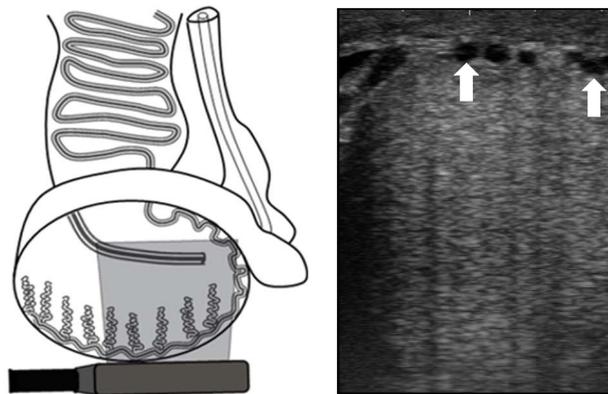


Figura 3.– O esquema à esquerda demonstra como o transdutor linear (5 MHz de frequência) foi colocado no testículo, possibilitando a visualização dos ramos da artéria testicular (setas).

Ultrassonografia Doppler

A ultrassonografia Doppler é uma tecnologia emergente na medicina veterinária que propicia informações da vasculatura de vários órgãos, incluindo os testículos (Carvalho et al., 2008), logo, é uma técnica capaz de amplificar a capacidade de diagnóstico e de monitoramento no âmbito da andrologia equina (Ginther, 2004).

O efeito Doppler é exemplificado por meio da avaliação dos vasos sanguíneos, as células sanguíneas em movimento dentro dos vasos refletem a onda sonora emitida pelo transdutor (Vermillon, 1997). A frequência emitida pelo aparelho é constante, já a frequência dos ecos refletidos varia conforme a movimentação das células em relação ao transdutor. A diferença entre a frequência do som que foi emitido e a frequência que foi refletida é chamada deslocamento de frequência Doppler (fd) (Szatmári et al, 2001). Se o fluxo sanguíneo estiver em direção ao transdutor, a frequência dos ecos que retornam será

mais alta, o que resulta em uma fd positiva; já se o fluxo sanguíneo estiver em sentido contrário ao do transdutor, se tem uma frequência mais baixa do que a que foi transmitida, e uma fd negativa (Cerri et al., 1998). Quando a fonte de onda, no caso as células sanguíneas, se movem de forma perpendicular ao transdutor, não há deslocamento Doppler, dessa forma, não são detectados sinais Doppler colorido pelo equipamento (Ginther, 2004).

A avaliação da perfusão sanguínea da artéria testicular por meio do Doppler colorido (Dogra et al., 2003) indica a velocidade, a presença e a direção do fluxo (Szatmári et al., 2001). O sinal recebido pelos elementos de amostragem do vaso é codificado por cores em relação ao sentido do fluxo e a velocidade do movimento (Kawakama, 1993). As diferentes cores indicam a direção do fluxo sanguíneo que também é demonstrada em uma barra colorida ao lado da imagem. Já as intensidades das cores fornecem a referência de velocidade, onde os fluxos de maior velocidade são expressos por tons mais claros da mesma cor (Cerri et al., 1998; Figura 4).

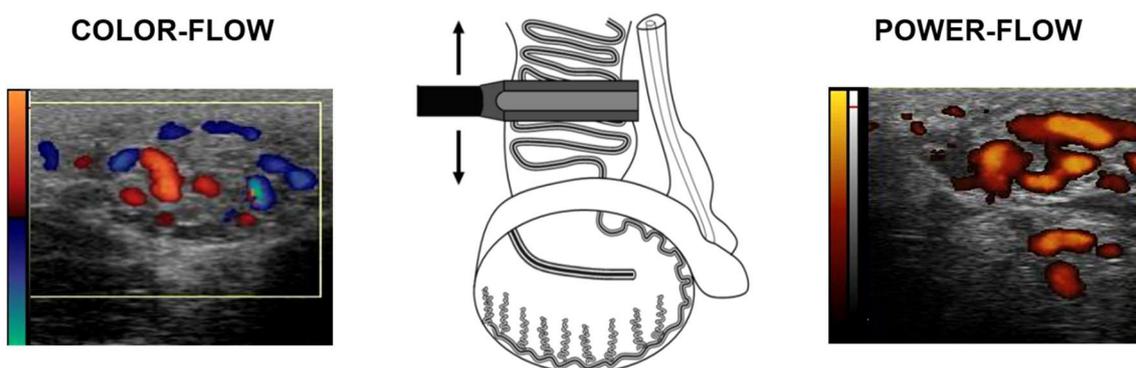


Figura 4. O esquema demonstra como o transdutor linear foi colocado para avaliação do funículo espermático. Na imagem ultrassonográfica: (direita) esta demonstrando o Doppler colorido e (esquerda) Power Doppler.

O Power Doppler é mais sensível que o Doppler colorido e, portanto, é utilizado para avaliar vasos de menor diâmetro e com menores velocidades de fluxo sanguíneo, especialmente no interior do parênquima testicular. Esse modo expressa a presença ou não de fluxo sanguíneo no vaso avaliado. Essa modalidade detecta a amplitude ou potência do sinal Doppler e é muito eficiente no diagnóstico de ausência ou fluxo sanguíneo deficiente. A quantidade de células sanguíneas em movimento no vaso, ou seja, a intensidade do fluxo é representada como um gradiente de cor laranja sobreposto sobre a imagem do ultrassom modo B, que varia de laranja escuro para um laranja claro, representando menor e maior intensidade, respectivamente (Pozor, 2007).

No Doppler pulsado ou espectral, o aparelho envia ondas curtas (pulsos) dentro de intervalos regulares (Szatmári et al., 2001) e a velocidade do fluxo sanguíneo é mensurada em função do tempo a partir da fd e do ângulo de insonação (Dogra et al., 2003). O ângulo de insonação corresponde ao ângulo de intersecção do feixe do ultrassom com o fluxo sanguíneo, sendo que para obter informações mais confiáveis o ângulo deve estar entre 30° e 60° (Ginther, 2004; Pozor & McDonnell, 2004).

Ao ativar o modo espectral, os resultados do campo de amostragem do vaso avaliado são expressos em um gráfico denominado espectro, que representa a mudança de velocidade ao longo do tempo em associação com os pulsos dos ciclos cardíacos (Pozor, 2007). O espectro fornece os valores de velocidade do pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF) e velocidade máxima média (TAMV) (Pozor, 2007). O VPS corresponde ao valor máximo no decorrer do espectro, VDF representa a velocidade final de um ciclo cardíaco e o TAMV é a média dos valores máximos durante todo gráfico (Figura 5) (Ginther, 2004).

Como a impedância vascular não pode ser obtida apenas pelo valor de velocidade absoluta, os índices Doppler, índice de resistência (IR) e índice de pulsatilidade (IP), foram desenvolvidos. Esses índices são razões calculadas a partir de vários pontos do espectro por meio das três velocidades já citadas: $IR = (VPS - VDF / VPS)$ e $IP = (VPS - VDF / TAMV)$. O IR indica a resistência ao fluxo sanguíneo que pode ser gerada por aumento da viscosidade sanguínea, redução do diâmetro do vaso ou por vasos muito compridos. Já o IP indica a pulsatilidade da forma de onda (Ginther, 2004).

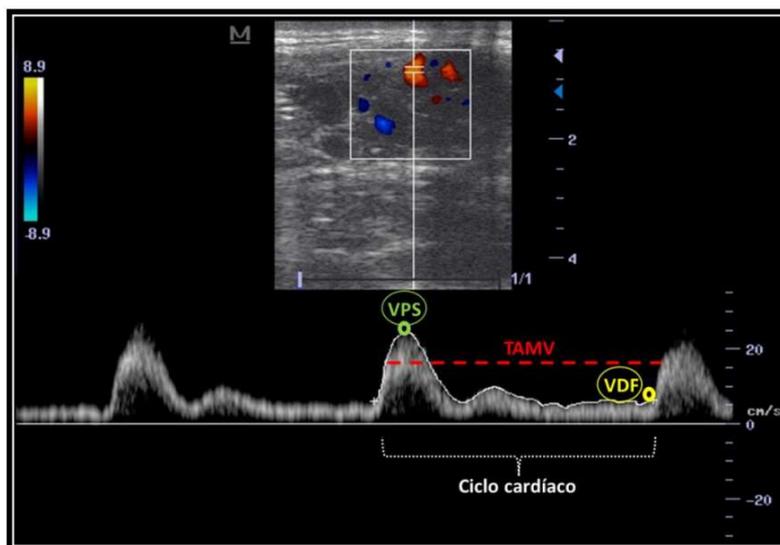


Figura 5. Espectro demonstrando a velocidade do fluxo sanguíneo ao longo de um ciclo cardíaco, com destaque para os valores de velocidade do pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF) e velocidade máxima média (TAMV) (Silva & Monteiro, 2020).

Os índices Doppler independem do ângulo de insonação e, portanto, são utilizados em artérias pouco calibrosas ou muito tortuosas, no qual fica mais difícil estimar o ângulo. O aumento de IR e IP aponta redução da perfusão ao tecido ou órgão, sendo o IR mais sensível e por isso já vêm sendo utilizado no diagnóstico de transtornos do fluxo sanguíneo testicular em humanos (Biagiotti et al., 2002). Um fluxo sanguíneo com alto IR e IP gera um gráfico com picos sistólicos mais afilados e fluxo reverso no início da diástole. Já um padrão de fluxo de baixa resistividade e pulsatilidade são caracterizados por picos sistólicos amplos e contínuos e alta velocidade de fluxo na diástole, sendo a velocidade decrescente (Szatmári et al., 2001).

Nos garanhões, a artéria testicular é geralmente avaliada no cordão espermático (artéria supratesticular), e/ou no polo caudal do testículo (artéria capsular ou marginal) e/ou no parênquima testicular (artéria intratesticular) (Figura 6). Entretanto, é mais facilmente visualizada na região do cordão quando comparado ao ramo marginal, em função do maior calibre (Pozor & McDonnell, 2004).

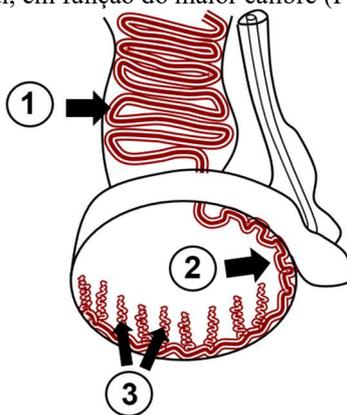


Figura 6. Esquema da artéria testicular com ênfase nas três regiões de avaliação com o Doppler espectral e orientação do transdutor. 1) Cordão espermático: artéria supratesticular; 2) Próximo à cauda do epidídimo: artéria capsular ou marginal e, 3) dentro do parênquima: artéria intratesticular.

Características da ultrassonografia Doppler na avaliação da função testicular e subfertilidade

O suprimento sanguíneo adequado para os testículos é determinante para sua função. A identificação precoce dessas falhas na perfusão sanguínea para os testículos é essencial para o diagnóstico de distúrbios testiculares, e para monitoramento dos resultados terapêuticos (Ortega-Ferrusola et al., 2014).

A modalidade Doppler espectral têm se mostrado uma técnica efetiva para complementar o diagnóstico de afecções reprodutivas e caracteriza uma forma alternativa aos métodos de rotina mais lentos e laboriosos (Pozor et al, 2014). Nesse contexto, além de bons marcadores da espermatogênese (Biagiotti et al., 2002), os índices Doppler foram considerados indicadores confiáveis para identificar distúrbios reprodutivos. Homens oligospermicos apresentaram IR mais elevado (IR médio = 0,7) quando comparado a homens com contagem normal de espermatozoides (IR médio = 0,5), no qual sugeriram que o IR superior a 0,6 implica em contagem de espermatozoides com alterações morfológicas. Ademais, o IR juntamente com o VPS são úteis para diferenciar azoospermia obstrutiva da não obstrutiva em homens, com valores inferiores nos casos de azoospermia não obstrutiva. Porém, como as velocidades VPS e VDF dependem do ângulo de insonação para serem calculadas e, portanto, exige uma avaliação mais cuidadosa, o IR surge como alternativa rápida e eficaz (Pinggera et al., 2008).

O estudo de Ortiz-Rodriguez e colaboradores (2017) descreveu a redução no fluxo sanguíneo testicular dos garanhões subfêrteis, com redução significativa no diâmetro da artéria capsular (0,32mm vs 0,25mm). Esses garanhões subfêrteis apresentaram valores inferiores de todas as velocidades Doppler (VPS, VDF, TAMV), e de TABF e Tx TABF, o que caracteriza uma menor perfusão sanguínea. Além disso, Pozor e colaboradores (2014) induziram garanhões a oligospermia por meio de uma substância com propriedades anti-espermatogênica. Os animais tratados desenvolveram fluxo sanguíneo resistivo na artéria testicular, o que se refletiu em valores elevados de IR e IP. Os valores de IR e IP também foram negativamente correlacionados com o número total de espermatozoides, número total de espermatozoides morfológicamente normais com mobilidade progressiva e volume testicular.

Um estudo recente comparou os parâmetros Doppler da artéria testicular de garanhões normais, com degeneração testicular induzida (DTI) e degeneração testicular adquirida (DTA). Foi constatado variação dos parâmetros (IR e IP) nos grupos DTI e DTA quando comparado ao grupo controle (normais). Porém, quando foram analisados os parâmetros Doppler em garanhões com DTI e DTA separadamente, observamos resultados completamente diferentes em ambos os grupos (Silva et al, 2022). Os resultados desses estudos, sugerem que os índices IR e IP, podem ser utilizados na prática no diagnóstico de subfertilidade; entretanto, mais estudos devem ser realizados para entendimento pleno dos mecanismos de adaptação vascular frente a disfunções testiculares.

Além de aplicação no diagnóstico de subfertilidade, o Doppler espectral representa uma possibilidade de diagnóstico precoce das patologias reprodutivas associadas com alteração do fluxo sanguíneo, como torção do cordão espermático, hidrocele, varicocele, alterações inflamatórias testiculares/escrotais e neoplasias, possibilitando a intervenção com tratamento mais adequado e com melhores prognósticos (Ortiz-Rodriguez et al., 2017).

Torção do cordão espermático

A mobilidade excessiva do testículo pode levar a uma rotação deste em torno do seu eixo vertical, de modo a estrangular o cordão, o que reduz ou cessa a perfusão sanguínea ao órgão. Pozor e McDonnell (2004) relataram fluxo sanguíneo diastólico retrógrado em garanhões com torção do cordão de 180° e sugeriram que apesar da ausência de sinais clínicos evidentes, essa afecção afeta o fluxo sanguíneo testicular. Além disso, Silva (2020) constatou menor IR nos testículos torcidos de garanhões jovens (IR médio=0,73) na artéria suprategicular, quando comparado aos testículos normais (IR médio=0,82) de animais da mesma faixa etária. Uma hipótese para explicar a menor resistência é a ocorrência de uma dilatação secundária do vaso como mecanismo de compensação do nível de fluxo sanguíneo, ou devido a uma dilatação do vaso decorrente da própria estase sanguínea abaixo do ponto de torção.

Varicocele

A varicocele consiste na dilatação e tortuosidade das veias que percorrem o cordão espermático. Sua origem pode estar relacionada com a incompetência das válvulas que leva ao refluxo venoso. Dessa forma, numa tentativa de manter a homeostasia da pressão intratesticular, o sangue oxigenado fica estacionado no sistema de microcirculação arterial e a chegada aos testículos é dificultada (Gat et al., 2005). Em garanhões com varicocele foi constatado alteração dos índices Doppler e da velocidade, com uma tendência à maiores valores de VPS, IR e IP na artéria suprategicular (Pozor e McDonnell, 2004).

Orquite e epididimite

A orquite e epididimite correspondem a inflamações dos testículos e epidídimos, podem ser

consequência de traumas, feridas perfurantes no testículo, migração de parasitas, agentes infecciosos por disseminação hematogênica e doença autoimune. Em função da inflamação é observado pelo Doppler Colorido o aumento da perfusão sanguínea para o órgão afetado (hipervascularização). Estudos em garanhões, Ortega-Ferrusola et al. (2014) relataram aumento de IR e fluxo diastólico retrógrado em um garanhão com suspeita de orquite-epididimite crônica que apresentava regiões hipoeóicas multifocais no parênquima de ambos os testículos, compatíveis com granuloma ou fibrose espermiática.

Neoplasia testicular

A ultrassonografia em modo B em associação com o Doppler é uma ferramenta essencial para diferenciar estruturas sólidas localizadas nos testículos, assim como, diferenciar massas neoplásicas das lesões císticas. Em um estudo com cães foi relatado sinais vasculares intensos ao redor e no interior das massas neoplásicas testiculares a partir da avaliação com o color Doppler, e nenhum fluxo foi detectado em estruturas císticas. Portanto, apesar do método de escolha para o diagnóstico de neoplasias testiculares ser o exame histopatológico, a ultrassonografia Doppler pode aumentar a confiabilidade do diagnóstico e evitar erros (Bigliardi et al., 2018).

Considerações

A ultrassonografia Doppler é uma ferramenta eficaz no monitoramento da perfusão testicular de garanhões e, se revela um método promissor para o monitoramento de função testicular, afecções testiculares vasculares e diagnóstico de subfertilidade em garanhões.

Referências

- Bigliardi E, Denti L, De Cesaris V, Bertocchi M, Di Ianni F, Parmigiani E.** Color doppler ultrasound imaging of blood flows variations in neoplastic and non-neoplastic testicular lesions in dogs. *Reprod Domest Anim.* v.64, p.63-71, 2018.
- Carvalho CF, Chammas MC, Cerri GG.** Princípios físicos do Doppler em ultrassonografia. *Cienc Rural.*v.38, p.872-879, 2008.
- Cartee RE, Powe TA, Gray BW, Hudson RS, Kuhlers DL.** Ultrasonographic evaluation of normal boar testicles. *Am J Vet Res,* v.47, p.2543-2544, 1986.
- Cerri GG, Mólnar LJ, Paranaguá-Vezozzo DC.** Doppler. São Paulo: Sarvier; 1998. Avaliação dúplex do fígado, sistema portal e vasos viscerais; p.120-1.
- Chenier TS.** Anatomy and physical examination of the stallion. In Samper CS (ed). Equine breedings management and artificial insemination. Philadelphia: WB Saunders, 2009, p.1-17.
- Dogra VS, Gottlieb RH, Oka M, Rubens DJ.** Sonography of the scrotum. *Radiology.* 2003, p.18-36.
- Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG.** Tratado de anatomia veterinária, 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004 813p.
- Eilts BE, Pechman RD.** B-mode ultrasound observations of bull testes during breeding soundness examinations. *Theriogenology,* v.30, p.1169-1175, 1988.
- Gat Y, Zukerman Z, Chakraborty J, Gornish M.** Varicocele, hypoxia and male infertility. Fluid mechanics analysis of the impaired testicular venous drainage system. *Hum Reprod.* v.20, p.2614-2619, 2005.
- Ginther OJ, Utt MD.** Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential. *J Equine Vet Sci.* V.24, p516-526, 2004.
- Guenzel-Apel AR, Moehrke C, Nautrup CP.** Colour-coded and pulsed Doppler sonography of the canine testis, epididymis and prostate gland: physiological and pathological findings. *Reprod Domest Anim.* v.36, p.236-240, 2001.
- Held JP, Prater P, Toal RL, Blackford JT, Mccracken M.** Sperm granuloma in a stallion. *J Am Vet Med Assoc,* v.194, p.267-268, 1989.
- Held JP, Adair S, McGavin MD, Adams WH, Toal R, Henton J.** Bacterial epididymitis in two stallions. *Am Vet Med Assoc,* v.197, p.602-604, 1990.
- Hunt RJ, Hay W, Collatos C, Welles E.** Testicular seminoma associated with torsion of the spermatic cord in two cryptorchid stallions. *J Am Vet Med Assoc,* v.197, p.1484-1486, 1990.
- Love CC.** Ultrasonographic evaluation of the testis, epididymis, and spermatic cord of the stallion. *Vet Clin North Am Equine Pract,* v.1, p.167-182, 1992.
- Ortiz-Rodriguez JM, Anel-Lopez L, Martín-Muñoz P, Alvarez M, Gaitskell-Phillips G, Anel L.** Pulse Doppler ultrasound as a tool for the diagnosis of chronic testicular dysfunction in stallions. *Plos One.* v.12,

2017.

Ortega-Ferrusola C, Gracia-Calvo LA, Ezquerro J, Pena FJ. Use of colour and spectral Doppler ultrasonography in stallion andrology. *Reprod Domest Anim.* v.49, p.88-96, 2014.

Pozor M, Kolonko D. The testicular artery of stallions in clinical and morphological studies. *Med Weter.* v.57, 822-826, 2001.

Pozor MA, McDonnell SM. Color Doppler ultrasound evaluation of testicular blood flow in stallions. *Theriogenology*, v.61, p.799-810, 2004.

Pozor MA. Evaluation of Testicular Vasculature in Stallions. *Clinical Techniques in Equine Pract*, v.6, p.271-277, 2007.

Pozor MA, Nolin M, Roser J, Runyon S, Macperson ML, Kelleman A. Doppler index of vascular impedance as indicator of testicular dysfunction in stallions. *J Equine Vet Sci.* v.34, p.38-39, 2014.

Setchell BP. Testicular blood supply, lymphatic drainage and secretion of fluid. In: Johnson AD, Gomes WR, Vandemark NL. The testis. New York: Academic Press, v.1, p. 101-239, 1970.

Silva, D.S.; Monteiro, G.A. Ultrassonografia doppler aplicada ao diagnóstico de distúrbios testiculares em garanhões. *Vet. Zootec*, n.27, p.1-17, 2020.

Silva-Alvarez ED, Gaitskell-Phillips G, Ortiz-Rodríguez JM, Serres C, García-Rodríguez B, Gutierrez-Cepeda L, Martín-Cano FE, Echegaray A, Escartin-Casas N, Requena F, Gil MC, Pena FJ, Ortega-Ferrusola C. Evaluation of testicular echotexture with Ecotext as a diagnostic method of testicular dysfunction in stallions. *Theriogenology*, v.185, p.50-60, 2022.

Sullivan R, Saez F, Girouard J, Frenette G. Role of exosomes in sperm maturation during the transit along the male reproductive tract. *Blood Cell Mol Dis*, v.35, p.1-10, 2005.

Schurich M, Aigner F, Frauscher F, Pallwein L. The role of ultrasound in assessment of male fertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, v.144, p.192-218, 2009.

Szalmári V, Sótonyi P, Vörös K. Normal duplex Doppler waveforms of major abdominal blood vessels in dogs: a review. *Vet Radiol Ultrasound*, v.42, p.93-107, 2001.

Turner RM. Ultrasonography of the genital tract of the stallion. In: Reef VB (ed). *Equine Diagnostic Ultrasound*. WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, p.446-479, 1998.

Turner RM. Pathogenesis, diagnosis, and management of testicular degeneration in stallions. *Clin Tech Equine Pract.* v.6, p.278-284, 2007.

Vermillon RP. Basic physical principles. In: Snider AR, Serwer GA, Gersony RA. *Echocardiography in pediatric heart disease*. 2nd ed. Missouri: Mosby; 1997. cap.1, p.1- 10.

Kawakama J Física. In: Cerri GG, Rocha DC. *Ultra-sonografia abdominal*. São Paulo: Sarvier; 1993. cap.1, p.1-14.

Biagiotti G, Cavallini G, Modenini F, Vitali G, Gianaroli L. Spermatogenesis and spectral echo-colour Doppler traces from the main testicular artery. *BJU Int.* v.90, p.903-908, 2002.

Pinggera GM, Mitterberger M, Bartsch G, Strasser H, Gradl J, Aigner F. Assessment of the intratesticular resistive index by colour Doppler Ultrasonography Measurements as a Predictor of Spermatogenesis. *BJU Int.* v.101, p.722-726, 2008.
