



**Evaluación reproductiva de la hernioplastia  
inguinal laparoscópica en la estación mediante  
colgajo peritoneal**

**Tesis Doctoral**

**Luis Alfonso Gracia Calvo**

**Departamento de Medicina Animal**

**Año de lectura: 2014**

## **Evaluación reproductiva de la hernioplastia inguinal laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal**

Luis Alfonso Gracia Calvo

Luis Javier Ezquerro Calvo, Profesor Titular de Medicina y Cirugía Animal del Departamento de Medicina Animal de la Universidad de Extremadura, Fernando Juan Peña Vega, Profesor Titular de Medicina y Cirugía Animal del Departamento de Medicina Animal de la Universidad de Extremadura, y Cristina Ortega Ferrusola, Investigador Contratado del Departamento de Medicina Animal de la Universidad de Extremadura, en calidad de Directores de la Tesis Doctoral titulada “**Evaluación reproductiva de la hernioplastia inguinal laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal**”, tienen el honor de informar que:

D. Luis Alfonso Gracia Calvo ha trabajado bajo su dirección desde 2011 en el tema antes citado.

Que tanto el material bibliográfico como las experiencias presentadas han sido oportunamente analizados y cuidadosamente seleccionados. Los resultados y conclusiones hacen estimar a quienes esto suscriben como directores de la Tesis Doctoral, que puede ser presentada a efectos de ser juzgada.

Lo que firman y rubrican en Cáceres, a 1 de Julio de 2014.

Fdo. L. Javier Ezquerro Calvo

Fdo. Fernando Peña Vega

Fdo. Cristina Ortega Ferrusola

**A mis padres Eusebio y María Pilar, y mi hermana María José, porque sin ellos  
nunca nada hubiera sido posible y aunque esté lejos, siempre los tengo muy  
presentes.**

**A Heidi, por todo su amor, paciencia y apoyo.**

## *Agradecimientos*

## **Agradecimientos:**

En esta primera sección quiero mostrar mi más profundo agradecimiento a todos los que han hecho posible este estudio cuyo resultado final es esta tesis doctoral. De una u otra forma multitud de personas han colaborado.

En primer lugar quiero mostrar mi más profundo agradecimiento al Profesor Luis Javier Ezquerro Calvo. Él ha hecho realidad lo que parecía imposible. Antes de llegar a Cáceres, yo aspiraba a poder realizar un doctorado y una residencia, y me ha brindado ambas cosas. Creo que no puedo pedir más. Además de sus conocimientos y habilidades profesionales, para mí es también un ejemplo de trabajador incansable, tesón y humildad. No es fácil encontrar personas que con su nivel de cualificación y conocimientos se muestren siempre abiertas a aprender cosas nuevas y escuchar a otros compañeros con mucha menos experiencia. Él siempre me ha escuchado.

Al Profesor Fernando Peña Vega y a la Dra. Cristina Ortega Ferrusola, ambos del departamento de reproducción. Ellos han co-supervisado esta tesis. Sin ellos no hubiera sido posible realizar este trabajo, le han sabido dar la orientación adecuada y han aportado nuevas ideas, como la ecografía Doppler sugerida y realizada por la Dra. Ortega. También me han ayudado a interpretar y trabajar con parte de los datos obtenidos, ya que el campo de la reproducción equina me era ajeno.

A la Profesora María Esther Durán Flórez porque ella ha llevado a cabo todo el estudio anatomopatológico, que era, con diferencia, el más arduo y extenso.

Al Profesor Joaquín Jiménez Frago, de quien he adquirido múltiples conocimientos relacionados con la ortopedia y el diagnóstico por imagen, a pesar de que como él bien sabe no es mi campo favorito en la veterinaria. Del Profesor Jiménez quiero destacar su

amor por la enseñanza a veterinarios, estudiantes y propietarios, y su gran paciencia. Siempre está dispuesto a repetir cualquier explicación las veces que sea necesario.

A Dña. María Marín Cuervo, mi compañera todos estos años “en la primera línea del frente”. Ella siempre ha estado cuando la he necesitado y ha sabido escuchar pacientemente todas mis quejas. Ella ha puesto muchas veces sentido común sobre muchos de los casos que hemos compartido, ya que a los que nos gusta la cirugía tenemos una cierta tendencia a operar “todo lo posible”.

Al Profesor Rafael Barrera Chacón, actual director del Hospital Clínico Veterinario, y que siempre ha visto con buenos ojos el que se puedan desarrollar doctorados y residencias por parte de los veterinarios contratados por el hospital.

Al Dr. Antolín Morillo Rodríguez, D. Juan María Gallardo Bolaños, Dña. Carolina Balao da Silva y Dña. María Plaza Dávila por su colaboración en la parte del estudio relacionada con el espermiograma que conllevó más de un susto y por su amistad durante todo este tiempo.

A los Profesores Miguel Ángel Vives Vallés y María Cinta Mañé Seró por su amistad, el cariño con el que me han acogido y sus buenos consejos.

A D. Roberto Martín Reyes y Dña. María Salud González Reyes, porque ellos también han aportado una parte indispensable a este trabajo, por su amistad y porque siempre han puesto mucho sentido común en cualquier tema en general.

A los Profesores Mario Estévez García, Sonia Ventanas Canillas y David Morcuende Sánchez, porque ellos son los que me “arrastraron” desde Helsinki a Cáceres, por todo su cariño, su amistad y su ayuda con la estadística de este trabajo.

A todos los compañeros de pequeños animales, Dra. Verónica Vieítez Muñoz, Dña. Nieves Pastor Sirvent, D. Alejandro Gutiérrez Villalba, Dña. Ana Ramírez Pérez, Dr. Francisco Javier Duque Carrasco, Dña. Patricia Ruiz Tapia y la Profesora Concepción Zaragoza Bayle. Ellos son parte de la familia que formamos en el hospital.

A todos los veterinarios internos que han colaborado con éste proyecto, ayudando a preparar y cuidar los animales, D. Álvaro Santos, D. Miguel Moreno, Dña. Nuria Artero, D. Iván López, D. Alfonso Rodríguez, Dña. Iratxe Ibáñez, Dña. Cristina Laso, D. José Carlos Díaz, Dña. Mónica Mena y Dña. Rosana Galán.

A D. Javier Díaz Varela, D. Jesús Quintanilla Salas, D. Juan Abel Baca Salas, D. José Luis Sellers Soler, Dña. Verónica Barrera Romero, Dña. Noelia Tejero Mateos, D. Julián Iglesias Vázquez, Dña. Francisca María Morgado Sévolo, Dña Yolanda Sánchez Durán, D. Paulino Cáceres Ortega y a D. Pedro Hidalgo Arias. Todos ellos son una parte fundamental para que el Hospital Clínico Veterinario, donde se ha llevado a cabo este trabajo, funcione.

A D. Jesús Muro, D. José Privado y D. Ángel Calvo, que nos cedieron sus caballos desinteresadamente para poder llevar a cabo este estudio.

A todos los estudiantes internos que han colaborado en la preparación y cuidado de los animales.

## ***Introducción***



## **Introducción:**

Las hernias inguinales son un problema común que afecta casi exclusivamente a los sementales. Además de ser una situación de riesgo elevado para la vida del animal, puede suponer también una merma o abolición de su capacidad reproductiva. Un problema añadido que presentan las hernias inguinales es la recurrencia, por lo que hasta hace no mucho se recomendaba la castración y herniorrafia del lado afectado o incluso de ambos. En los últimos años se han desarrollado técnicas quirúrgicas abiertas con el fin de evitar la castración del animal. Éstas no han sido completamente satisfactorias ya que o bien causaban una constricción excesiva del cordón espermático o bien no evitaban completamente el riesgo de recurrencia.

En los últimos años, el empleo de técnicas laparoscópicas en équidos ha permitido realizar la hernioplastia de los anillos inguinales y conservar los testículos. Éstas son mucho más fiables que las técnicas abiertas y han demostrado que evitan la recurrencia. Los autores de dichas técnicas consideran que el pronóstico reproductivo es bueno y que no producen efectos secundarios o secuelas relacionadas con el aparato reproductor. Sin embargo los datos objetivos aportados a este respecto son pocos y en la mayoría de los casos son apreciaciones personales y subjetivas de dichos autores.

Existen diversas técnicas laparoscópicas de hernioplastia de los anillos inguinales; sin embargo, en este trabajo se evaluará únicamente la hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal. Desde nuestra experiencia esta técnica es la más fiable, fácil de realizar y con la que estamos más familiarizados. Dicha técnica no requiere de anestesia general, por lo que se evitan las complicaciones derivadas de ésta y además no es necesario el uso de mallas, lo que evita la aparición de adherencias.

*1. Hipótesis:*

La hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal no produce efectos secundarios o secuelas sobre el aparato reproductor del semental.

*2. Objetivos:*

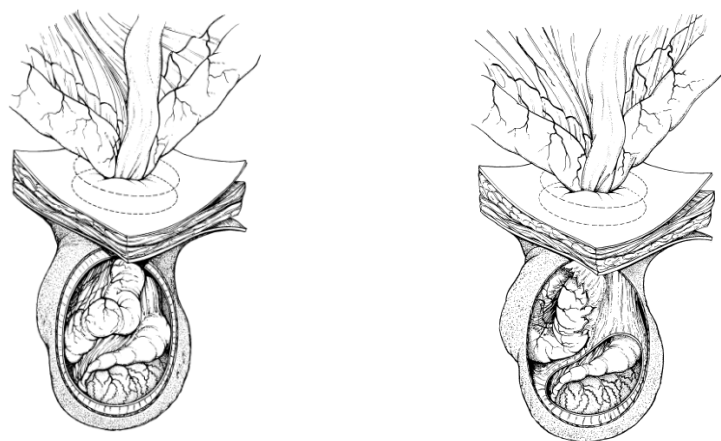
1. Determinar si la hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal afecta a la calidad espermática a medio plazo (un año) tras la cirugía.
2. Determinar si la hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal afecta al flujo sanguíneo testicular a medio plazo (un año) tras la cirugía.
3. Determinar si existen alteraciones histológicas en el parénquima testicular y cordón espermático un año después de la hernioplastia en comparación con un grupo similar de sementales no operados y castrados.

## *Revisión bibliográfica*

## Revisión bibliográfica

### 1. *Hernias inguinales*

Las hernias inguinales son un problema bien descrito y reconocido en los équidos que afecta principalmente a los machos adultos enteros, aunque también pueden suceder en neonatos, machos jóvenes, machos castrados e incluso hembras. (Breukink et al. 1980, Scheneider et al. 1982, Umstead et al. 1986, Weaver 1987, Robertson y Embertson 1988, van der Velden y van der Harst 2004, Moorman y Jehn 2009). Las hernias inguinales se pueden clasificar en indirectas y directas (perforadas) (Figura 1). Las hernias directas son aquéllas en las que las vísceras abdominales pasan a través de un defecto en la pared abdominal o de la túnica vaginal. Éstas son más comunes en potros, y no son reducibles aunque no suelen estar estranguladas. Las hernias indirectas son aquéllas en las que las vísceras pasan a través del canal inguinal pudiendo ser reducibles o no reducibles y estranguladas o no (Spurlock y Robertson 1988, van der Velden 1988, Mariën et al. 2000, Cousty et al. 2010). La presentación más frecuente en équidos son las hernias indirectas (Freeman 2012).



**Figura 1: Hernia inguinal indirecta e indirecta perforada (fuente:Auer)**

Los signos clínicos difieren bastante según el tipo de hernia y la edad del animal afectado. En el caso de las hernias no estranguladas, como ocurre generalmente en los

neonatos, los signos clínicos se limitan a un abultamiento evidente del área escrotal. Por otra parte, si estas hernias son perforadas, pueden aparecer signos intermitentes de cólico y depresión (Richardson 1985, Robertson y Embertson 1988, Freeman 2012) (Figura 2). Cuando se trata de hernias estranguladas en caballos adultos, aparecen signos de dolor cólico de intensidad variable suponiendo un riesgo para la vida del animal y su futuro reproductivo, debido a la compresión ejercida por las vísceras herniadas sobre los testículos y el cordón espermático y a las alteraciones en el mecanismo de termorregulación (Wright 1963, Scheneider et al. 1982, Weaver 1987, Metcalf 2007, Schumacher 2012).

Un problema añadido que presentan las hernias inguinales en general es la recurrencia cuando se reduce la hernia sin llevar a cabo hernioplastia o herniorrafia (Beard 2009). Incluso algunas razas de caballos tienen predisposición a padecer hernias inguinales, como por ejemplo el Pura Raza Español, los caballos de tiro, los caballos trotones o los caballos de deporte centro-europeos (Schneider et al. 1982, Shoemaker et al. 2004, Muñoz et al. 2008, Schumacher y Perkins 2010, Wilderjans et al. 2012). Dicha predisposición podría estar relacionada con la presencia de anillos inguinales más grandes y/o laxos de lo normal (Sembrat 1975, Schneider et al. 1982, Rossignol et al. 2007, Wilderjans et al. 2012). También se ha encontrado cierta heredabilidad en el caso de las hernias congénitas en potros (Roberts 1971, Beard 2011)



**Figura 2: Hernia inguinal en un neonato (Fuente: Auer)**

## *2. Tratamiento*

El tratamiento de las hernias inguinales (sin considerar el aparato digestivo) puede ser tanto médico como quirúrgico.

### *2.1 Tratamiento médico*

El tratamiento médico puede ser efectivo dependiendo de factores como la edad del caballo y el tipo de hernia. Las hernias en équidos neonatos o jóvenes suelen ser autolimitantes o fácilmente reducibles. En estos casos, un vendaje en forma de “8” aplicado en la región inguinal suele ser suficiente para su resolución (Mueller y Fisher 1998). En caballos adultos, las hernias inguinales se pueden reducir mediante manipulación rectal y/o masaje de las vísceras herniadas que se sitúan en el escroto. Este procedimiento puede realizarse tanto en la estación como bajo anestesia general. Sin embargo, la manipulación rectal conlleva un alto riesgo de producir una laceración rectal y en ambos casos es difícil determinar a priori la viabilidad del asa de intestino que ha estado atrapada (Goetz et al. 1981, Schneider et al. 1982, van der Velden 1988, Varner et al. 1991, Fisher et al. 1995, Wilderjans et al. 2008). Como se ha mencionado anteriormente, el tratamiento médico no evita la recurrencia.

### *2.2 Tratamiento quirúrgico*

#### *2.2.1 Abordajes abiertos*

El tratamiento quirúrgico es necesario cuando el tratamiento médico no resulta exitoso, cuando se quiere evitar la posible recurrencia o cuando se sospecha que la viabilidad del intestino está comprometida. En potros se realiza por lo general un abordaje inguinal, se reduce la hernia y se castra el testículo afectado. Posteriormente, se ocluye la túnica vaginal con puntos transfixiantes o se cierra el anillo inguinal externo mediante puntos

suelos (van der Velden 1988, Freeman 2012, Schumacher 2012, Wilderjans et al. 2012).

En caballos adultos con hernias no reducibles, se realiza una laparotomía por línea media junto con un abordaje inguinal (Schumacher y Perkins 2010, Freeman 2012, Wilderjans et al. 2012). Además, se recomienda la castración y el cierre del anillo inguinal externo del lado afectado o de ambos para evitar la recurrencia. Resulta obvio que estos procedimientos producen una merma parcial o completa de la capacidad reproductiva y por tanto del valor del caballo.

Por tanto, parece necesario elegir entre la capacidad reproductiva del caballo o el riesgo de recurrencia. Con el fin de preservar los testículos y evitar la recurrencia, se desarrollaron primero técnicas quirúrgicas abiertas y posteriormente mínimamente invasivas (laparoscópicas). Las técnicas quirúrgicas abiertas incluyen la imbricación de la túnica vaginal (Mueller y Fisher 1998) y la hernioplastia del anillo inguinal externo (Vaughan 1980). El inconveniente que presentan estas dos técnicas es que en ocasiones son insuficientes para prevenir la recurrencia o pueden comprometer el riego sanguíneo del testículo (Schumacher 2012).

### *2.2.2 Técnicas mínimamente invasivas*

En la siguiente sección se incluye una descripción tanto de las técnicas que preservan los testículos (serán nombradas como hernioplastia), como de aquellas que no (herniorrafia). El motivo de incluir las que no preservan los testículos es debido a que se han desarrollado de forma simultánea y emplean principios similares.

### *3. Técnicas laparoscópicas de hernioplastia y herniorrafia*

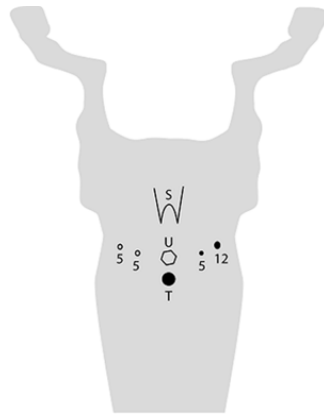
#### *3.1 Técnicas laparoscópicas de herniorrafia*

La primera técnica laparoscópica de castración y herniorrafia fue descrita en dos potros en 1996 (Klohn y Wilson 1996). La cirugía se realiza en decúbito dorsal bajo anestesia general en posición de Trendelenburg. El puerto para el telescopio se sitúa 2 cm lateral al ombligo. Seis centímetros craneal a cada anillo inguinal externo se crean dos puertos para cánulas de 10 mm. El último puerto se crea 7-8 cm craneal a uno de los dos anillos inguinales externos, para la introducción de una cánula de 5 mm. La hernia se reduce y los testículos se introducen en el abdomen. Tras seccionar el ligamento de la cola del epidídimo, se realiza hemostasia del cordón espermático mediante electrocauterio (pinzas bipolares) y ligaduras laparoscópicas. A continuación se secciona el cordón espermático y se procede al cierre de los anillos inguinales internos mediante grapas endoscópicas (Endopath® multifeed Stapler, 5.3 mm ×3.7). Los testículos se extraen del abdomen a través de cánulas laparoscópicas de 16 mm o mediante una incisión en el abdomen.

En el año 2008 se publicó el cierre de los anillos vaginal e inguinal interno mediante sutura, en potros inmediatamente tras la castración y en caballos adultos previamente castrados (Caron y Bakenhoff 2008). La cirugía se realiza en decúbito dorsal bajo anestesia general, en posición de Trendelenburg. El puerto para el telescopio se crea 2-3 cm lateral al ombligo en potros y en el ombligo en caballos adultos. Los puertos para el instrumental se sitúan en diferentes lugares, desde los anillos inguinales hasta el ombligo, paramedialmente. Para acceder al abdomen se emplean cánulas de diferentes diámetros, desde 5 a 12 mm, y el número total de éstas varía en función de si la cirugía se realiza en potros (5 puertos, 5 cánulas) o en adultos (3 puertos, 3 cánulas) (Figura 3).



Los testículos (o los remanentes del cordón espermático en los animales adultos ya castrados) se introducen en el abdomen. Posteriormente se cierra el anillo inguinal mediante puntos sueltos, con una sutura reabsorbible trenzada, y se castra el animal.



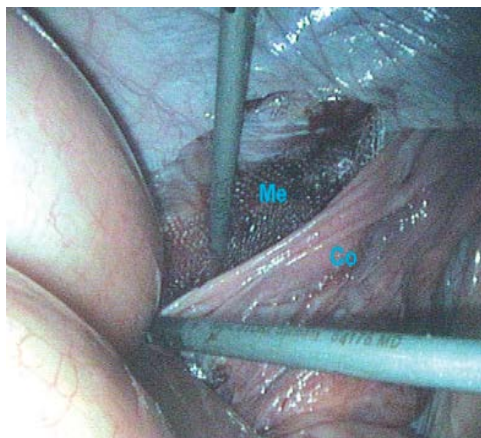
**Figura 3: Posición de los puertos según Caron y Brakenhoff (Fuente: Caron y Brakenhoff)**

Finalmente, la técnica de herniorrafia laparoscópica más recientemente descrita fue publicada en Enero de 2013. Esta técnica consiste en el empleo de una sutura con púas orientadas en una única dirección para cerrar el anillo inguinal interno. Dichas púas quedan fijadas en el tejido por lo que no es necesario anudar al final. Además esta sutura se emplea junto con un sistema de sutura laparoscópico automatizado, por lo que sólo se requieren dos puertos laparoscópicos (Ragle et al. 2013).

### *3.2 Técnicas laparoscópicas de hernioplastia*

La primera descripción de hernioplastia laparoscópica fue publicada en el año 1995. Esta técnica es similar a la reparación transabdominal pre-peritoneal con malla protésica en el hombre (en inglés trans-abdominal preperitoneal mesh repair –TAPP-) y consiste en la colocación de una malla no reabsorbible por debajo de un colgajo de peritoneo (Figura 4). El procedimiento se desarrolla en decúbito dorsal, bajo anestesia general, en posición de Trendelenburg. La posición de los puertos laparoscópicos es la siguiente: 1)

el puerto del telescopio se crea en el ombligo o levemente paramedial en el caso de potros neonatos para evitar dañar las estructuras umbilicales; 2) los puertos para instrumental, uno o dos por anillo inguinal, se crean 10-15 cm cranealmente y 10-15 cm medialmente al anillo inguinal externo. Una vez que están todos los puertos creados y se ha accedido a la cavidad abdominal, se disecciona un colgajo de peritoneo alrededor del anillo inguinal interno. Se eleva el colgajo y se coloca una malla de polipropileno alrededor del cordón espermático. Posteriormente, se cubre la malla con el colgajo de peritoneo y se fijan ambos a la pared abdominal mediante grapas laparoscópicas. La función de la malla es reducir el tamaño del anillo inguinal y dar resistencia mientras que el peritoneo evita que se produzcan adherencias a órganos de la cavidad abdominal (Fisher et al.1995). En potros jóvenes el anillo inguinal interno se puede obliterar simplemente con grapas lo que simplifica la cirugía (Fisher 2002).



**Figura 4: Técnica TAPP descrita por Fisher (Me= malla, Co= colgajo de peritoneo. Fuente: Rossignol)**

En el año 2000 se publicó una técnica similar a la anterior para la reparación de hernias congénitas en potros de entre 1 a 120 días de edad. De nuevo la cirugía se realiza en decúbito dorsal bajo anestesia general, en posición de Trendelenburg. El puerto laparoscópico se crea 3 cm craneal al ombligo, en la línea alba. Los dos puertos para el instrumental se crean en una línea imaginaria que va desde el borde craneal del anillo

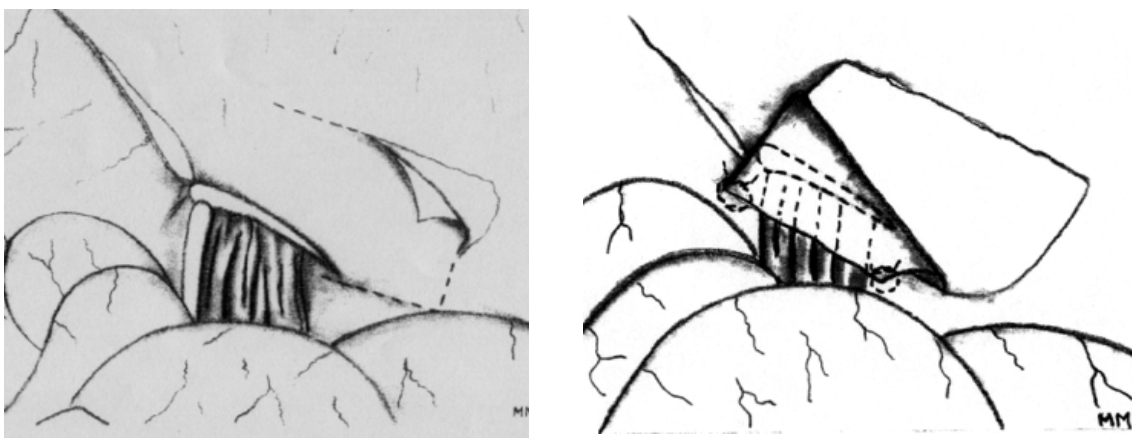
inguinal externo al ombligo, a unos 10 cm de distancia del anillo. Una vez que las vísceras herniadas se han reducido, el anillo inguinal interno se cierra parcialmente con entre 2 y 8 grapas endoscópicas de titanio (Mariën et al. 2000).

Un año más tarde, Mariën también describió la primera técnica laparoscópica de hernioplastia en caballos adultos en la estación bajo sedación. En este procedimiento se introduce una malla de polipropileno en el canal inguinal con el propósito de producir inflamación y fibrosis de manera controlada para obliterarlo. El caballo se coloca en un potro de contención, se tranquiliza convenientemente y se infiltra anestesia local en las áreas de piel donde se van a crear los puertos laparoscópicos. El puerto del telescopio se crea 2 cm dorsal al vientre del músculo oblicuo interno, entre la última costilla y la tuberosidad coxal. El segundo puerto se sitúa 3 cm caudal y 5 cm ventral al primer puerto. El tercer puerto se coloca 8 cm ventral al primero. Una vez creados los puertos y tras haber accedido al abdomen, se introduce por la cánula del segundo puerto una malla de polipropileno enrollada de unas medidas de 6×8 cm. La malla se mantiene enrollada mediante una sutura absorbible en cada uno de los extremos y se introduce en el canal inguinal (Figura 5). Una vez que está en la posición adecuada, la sutura del extremo más dorsal se corta para permitir que la malla se despliegue y ocupe así el máximo espacio del canal inguinal. Si es necesario se pueden emplear grapas laparoscópicas para fijarla a la pared abdominal (Mariën 2001).



**Figura 5: Malla de polipropileno insertada en el canal inguinal derecho.**

En el año 2007 se introdujo un cambio sustancial en la forma de realizar las hernioplastias laparoscópicas (Rossignol et al. 2007). En sustitución de la malla de polipropileno para obliterar el anillo inguinal interno se empleó un colgajo de peritoneo. Este procedimiento se realiza en decúbito dorsal bajo anestesia general, en posición de Trendelenburg. El puerto para el laparoscopio se crea en el ombligo. El segundo y tercer puerto se crean 7-12 cm craneales a cada anillo inguinal externo. Un colgajo de peritoneo de tamaño variable se disecciona del área ventro-lateral del anillo inguinal interno y una vez libre se rota dorso-medialmente hasta cubrir el anillo inguinal, fijándose con puntos sueltos intra-corpóreos o grapas laparoscópicas helicoidales (Figura 6) (Rossignol et al. 2007).



**Figura 6: Cordón espermático entrando en el anillo inguinal y colgajo de peritoneo (Fuente: Rossignol)**

En el año 2012 se introdujo una novedad en la hernioplastia laparoscópica mediante colgajo peritoneal, que consistía en realizarla en la estación, bajo sedación. El puerto del telescopio se crea en el 17º espacio intercostal, 5 cm ventral respecto a la tuberosidad coxal. Los otros dos puertos para instrumental se colocan en la fosa paralumbar de manera que el segundo se sitúa dorsal al vientre muscular del músculo oblicuo interno, entre la última costilla y la tuberosidad costal y el tercero a nivel del anillo inguinal, lo más caudal y proximal al pliegue de la babilla. Para el primer y segundo puertos se emplean cánulas laparoscópicas de 10 mm de diámetro y en el tercer puerto una de 12 mm ya que por ésta se introduce la grapadora laparoscópica que tiene un mayor diámetro. El colgajo de peritoneo se disecciona de la zona dorso lateral del anillo inguinal, se rota medialmente cubriendo el anillo, el mesorquio y el conducto deferente, y finalmente se fija a la zona caudo-medial del anillo inguinal y por toda su pared craneal (Wilderjans et al. 2012).

Finalmente, en el año 2014, se presentó otra técnica de hernioplastia, con el caballo en la estación y bajo sedación. Ésta consistente en rellenar el canal inguinal con 2 ml de pegamento quirúrgico (n-butil-2-ciano-acrilato). Dicho pegamento se inyecta en la parte lateral del canal inguinal a la vez que se empuja el cordón espermático caudo-medialmente. Inmediatamente después la zona lateral del anillo se comprime hasta conseguir la adhesión entre las capas visceral y parietal de dicho anillo. Una vez aplicado el pegamento, se colocan, 2 cm ventral al anillo, 2 ó 3 grapas helicoidales (Protrack™, Covidien) con el fin de evitar la migración ventral de éste. En el caso de anillos grandes o con el fin de reforzar el cierre se pueden aplicar puntos sueltos simples o en cruz. (Rossignol et al. 2014).

### 3.3 Resumen general de las técnicas laparoscópicas publicadas

Noventa y un caballos fueron operados mediante las distintas técnicas laparoscópicas. En ochenta de ellos se preservaron los testículos y los once restantes fueron castrados; cuarenta y nueve caballos se operaron en la estación, frente a cuarenta y dos bajo anestesia general; la mayoría, ochenta, no recibieron malla protésica. Esta tendencia se observa también cuando se organizan los estudios de manera cronológica, de más antiguo a más reciente. En nuestra opinión, la implantación de mallas protésicas es técnicamente más compleja y puede inducir adherencias. También resultan más prácticos los procedimientos en la estación ya que se evitan los riesgos relacionados con la anestesia general. Finalmente, el pequeño porcentaje de caballos que fue castrado durante el procedimiento de herniorrafia se debe a que una castración rutinaria y cierre del anillo inguinal externo es mucha más sencilla, barata y no requiere de instrumental específico.

#### 4. Complicaciones de las técnicas laparoscópicas:

En general todas estas técnicas se presentan como relativamente seguras y con una tasa de complicaciones reducida. En las siguientes tablas (Tabla 1 y 2) se recogen las diferentes técnicas, el número de caballos operados con cada una de ellas, las complicaciones ocurridas y los caballos afectados.

Técnica	Caballos	Complicaciones intra-operatorias	Complicaciones post-operatorias
Klohn y Wilson 1996	2 potros	Ninguna	Edema en un puerto
Caron y Bakenhoff 2008	6 potros 2 adultos	Mala posición de los puertos en un potro Moderado enfisema subcutáneo en dos potros	1 potro, edema escrotal moderado durante dos semanas 2 potros con seroma escrotal 1 potro con paraparesia
Ragle et al. 2012	1 adulto	Ninguna	Fiebre durante 48h.

**Tabla 1: Complicaciones de las técnicas laparoscópicas de herniorrafia.**

Técnica	Caballos	Complicaciones intra-operatorias	Complicaciones post-operatorias
Fisher et al. 1995	2 adultos	Ninguna	Ninguna
Mariën et al. 2000	16 potros	Distensión del escroto debido al CO <sub>2</sub>	1 potro con excesiva acumulación de líquido peritoneal en el escroto. (hernia perforada)
Mariën 2001	9 adultos	Ninguna	3 caballos con edema escrotal 25% recurrencia según Wilderjans et al. 2012
Rossignol et al. 2007	13 adultos	Ninguna	En un caballo el anillo no estaba correctamente obliterado
Wilderjans et al. 2012	30 adultos	2 caballos con excesivo sangrado del colgajo durante su disección 2 caballos, anestesia accidental del nervio femoral Rotura parcial del colgajo en un caballo	1 caballo con enfisema leve de la pared abdominal 1 caballo con diarrea auto-limitante 4/11 caballos recurrencia 1 caballo hemospermia 2 caballos con atrofia testicular bilateral
Rossignol et al. 2014	10 caballos	1 caballo goteo del pegamento por fuera del anillo 1 caballo, migración del pegamento seco distalmente hacia el escroto	1 caballo presentó pegamento seco alrededor del anillo inguinal

**Tabla 2: Complicaciones de las técnicas laparoscópicas de hernioplastia.**

La mayoría de estas complicaciones fueron leves y estaban relacionadas con la cirugía laparoscópica en general. Sin embargo, en nuestra opinión, las complicaciones más importantes fueron aquellas relacionadas específicamente con la hernioplastia y más concretamente con la hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal. Dichas complicaciones fueron recurrencia y atrofia testicular (Wilderjans et al. 2012). Inicialmente, 4 de 11 caballos sometidos a hernioplastia presentaron recurrencia de la hernia debido a que la zona caudo-medial del anillo no se cubría con el colgajo. Esta zona es crítica, ya que es por aquí por donde el intestino se hernia más frecuentemente. La técnica se modificó de manera que el colgajo cubría dicha zona y no se volvió a observar recurrencia. En el mismo artículo, Wilderjans y col. afirman que cuando empleaban la técnica descrita por Mariën en 2001 (malla) en su clínica, observaron un 25% de recurrencia. En cuanto a la atrofia testicular, ésta se produjo en

dos caballos, de acuerdo a los dueños de dichos animales, aunque los autores no pudieron examinar personalmente dichos caballos.

### *5. Pronóstico*

De acuerdo a los datos presentados por los estudios mencionados anteriormente, las técnicas laparoscópicas de hernioplastia tienen un pronóstico de bueno a excelente en términos de recurrencia y de preservación de la función reproductiva como se puede observar en la tabla 3.



Técnica	Nº de caballos	Recurrencia	Pronóstico reproductivo	Exploración rectal de los anillos inguinales	Espermiograma	Laparoscopia de seguimiento	Histología del testículo
Fisher et al. 1995	2	0	1 semental completó con éxito dos temporadas de reproducción	NA	NA	NA	NA
Mariën et al. 2000	16 potros de entre 1 y 120 días de edad	0	NA, solo hubo seguimiento durante 11 meses.	NA	NA	NA	NA
Mariën 2001	3 caballos experimentales  6 casos clínicos	0 en los casos clínicos	NA	4 semanas tras la cirugía, los anillos estaban obliterados	4 meses tras la cirugía, sin cambios destacables	2 semanas después de la hernioplastia. Anillos bien obliterados, sin adherencias	1 caballo, dos semanas después de la cirugía, sin cambios.
Rossignol et al. 2007	9 caballos experimentales  4 casos clínicos	0 en los casos clínicos	3 caballos usados como reproductores anteriormente.  Sin cambios.	En los caballos examinados no fue posible introducir los dedos en el anillo	NA	8/9 de los caballos experimentales mostraron los anillos bien cerrados	NA
Wilderjans et al. 2012	30 casos clínicos.  29 con seguimiento	4/11 inicialmente  Tras la modificación de la técnica 0	2 caballos atrofia testicular bilateral  1 caballo con hemospermia durante 6 meses.	NA	NA	NA	NA
Rossignol et al. 2014	10 casos clínicos	0	7 caballos empleados como reproductores antes de la cirugía. Todos mantuvieron su fertilidad.	4-6 semanas tras la hernioplastia. Anillos bien cerrados.	NA	NA	NA

**Tabla 3: Pronóstico de las técnicas laparoscópicas de hernioplastia. NA=no aplicable.**

Sin embargo, se debe mencionar que la conservación de los testículos no es sinónimo de fertilidad y los estudios mostrados anteriormente carecen de información detallada de los posibles efectos adversos de la hernioplastia sobre la capacidad reproductiva. Uno

de los autores (Fisher 2002) considera que el uso de mallas de polipropileno en el canal inguinal podría generar adherencias que comprometiesen el flujo sanguíneo del testículo y por tanto afectar la fertilidad del animal. Otros autores también opinan que el colocar una malla de polipropileno en contacto con el cordón espermático podría producir atrofia del testículo e infertilidad (Wantz 1991, Rossignol et al. 2007). Sin embargo, los dos únicos casos en los que se produjo atrofia testicular fueron en caballos sometidos a hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal.

No hay estudios objetivos en équidos que demuestren si la técnica afecta o no a la función testicular a posteriori. Todos los estudios encontrados en la literatura proceden de otras especies y del hombre.

#### *6. Estudios en otras especies*

Uzzo y col. realizaron de forma experimental dos técnicas diferentes de hernioplastia en 12 perros machos enteros, sanos, de raza Beagle. En la mitad de ellos se implantaron mallas de polipropileno y en la otra mitad se practicó la técnica Shouldice que consiste en la reconstrucción anatómica por planos de los tejidos, sin usar mallas. Se realizaron observaciones a los 6 y a los 12 meses después de la cirugía en las que se constataron varios hechos: 1) el tamaño de los testículos tendía a reducirse en los perros en los que se usó la malla, aunque no de forma significativa; 2) a los 6 meses uno de los perros presentaba isquemia testicular en uno de sus testículos, y a los 12 meses otros dos perros presentaban hidrocele, todos ellos pertenecientes al grupo de los operados con malla; 3) ni la motilidad ni la morfología de los espermatozoides mostraron diferencias entre los distintos grupos; 4) el estudio de la vascularización de los testículos mediante ecografía Doppler no mostró diferencias entre grupos, salvo en el perro que presentó

isquemia testicular; y 5) el examen anatomopatológico de los testículos al final del estudio mostró reacción significativa de cuerpo extraño en el cordón espermático y una reducción notable del lumen del conducto deferente en el grupo de perros operados con malla aunque no hubo hallazgos relevantes en el parénquima testicular (salvo en el perro con isquemia testicular) (Uzzo et al. 1999).

En otro estudio se crearon hernias inguinales en 26 cerdos que fueron reparadas mediante hernioplastia con malla, la mitad de ellos a través de laparotomía y la otra mitad mediante laparoscopia. Seis semanas después de la cirugía no se pudieron encontrar daños significativos en el cordón espermático, y únicamente uno de los cerdos operados mediante laparotomía mostró adherencias entre la malla y el cordón espermático. En el mismo estudio se operó otro grupo de 21 cerdos mediante laparoscopia y se realizó un seguimiento a más largo plazo, una media de 7.1 meses. Las características seminales de estos animales durante el periodo de seguimiento no se vieron afectadas, salvo en tres cerdos, aunque éstas se debieron a otros procesos patológicos no relacionados con la cirugía. Tras su eutanasia y posterior estudio anatomopatológico, no se encontraron adherencias en el cordón espermático ni estenosis del conducto deferente. Los testículos presentaban un aspecto macroscópico normal y su peso era similar al de una población de cerdos de semejantes características no operados (Fitzgibbons et al. 1994).

En otro modelo experimental se produjeron hernias inguinales bilaterales en un grupo de conejos. Uno de los lados se reparó usando una malla de polipropileno y el otro mediante una reconstrucción anatómica (Shouldice). En el lado reparado mediante malla se detectó una disminución significativa del flujo arterial y de la temperatura del testículo. Además, en los estudios histológicos posteriores, los testículos correspondientes al lado operado con malla mostraron una reducción significativa del

número de túbulos seminíferos que presentaban espermatogénesis normal (Peiper et al. 2005).

En un último estudio, se implantaron mallas de polipropileno en conejos y cerdos mediante diferentes abordajes. En primer lugar, se empleó un grupo de quince verracos en los que se practicó hernioplastia bilateral. En un lado se colocó una malla y en el opuesto se realizó reconstrucción anatómica (Shouldice). Tras la cirugía los cerdos se eutanasiaron en grupos de tres, a los 7, 14, 21, 28 y 35 días. Los estudios histológicos de la región inguinal mostraron más cambios de tipo inflamatorio en el lado reparado con la malla. También se detectó trombosis venosa en el lado de la malla en 5 de los 15 cerdos operados. En un segundo experimento, un grupo de ocho conejos se sometieron a hernioplastia bilateral, usando malla en un lado y reconstrucción anatómica en el lado opuesto (Shouldice). Como control se emplearon tres conejos que no se operaron. Tras la cirugía se pudo observar un incremento del volumen testicular y un descenso de la temperatura en los testículos del grupo de conejos operados comparados con el grupo control. También se encontraron diferencias entre el lado operado con la malla y el opuesto, aunque en ningún caso se trataba de diferencias estadísticamente significativas. Donde sí se observaron diferencias estadísticamente significativas fue en el flujo arterial de los testículos, tanto entre el grupo control y el grupo operado, como entre el lado en el que se usaron las mallas y el opuesto. En los posteriores estudios histológicos se encontraron diferencias significativas en el grado de espermatogénesis (de acuerdo a la escala de Johnsen, 1970), siendo menor en el lado operado con malla que en el opuesto o que en los animales del grupo control (Peiper et al. 2006).

En la literatura médica también se han descrito este tipo de efectos adversos tras realizar hernioplastia inguinal. Éstos son debidos principalmente al daño sobre las estructuras vasculares del testículo y/o el conducto deferente (Tekatli et al. 2012). El

daño sobre las estructuras vasculares está relacionado con el propio trauma quirúrgico y puede llegar a producir orquitis isquémica (Wantz 1986, Wantz 1991, Yavetz et al. 1991, Fong y Wantz 1992). Otra causa que potencialmente puede llevar a la infertilidad son las lesiones sobre el conducto deferente, por compresión, debido a una reacción inflamatoria excesiva frente a la malla o debido a reacciones inmunológicas (Di Vita et al. 2000, Ridgway et al. 2002, Shin et al. 2005). Por otro lado, estudios retrospectivos más recientes han demostrado que no hay realmente un efecto negativo en la fertilidad de los hombres operados con mallas. Por ejemplo, Hallén y col. mostraron que sólo el 0.7% de un grupo de 34267 pacientes sometidos a hernioplastia con mallas de diferentes materiales mostraron infertilidad tras una primera intervención. También pudieron detectar que había un leve incremento del riesgo de infertilidad cuando se realizaba hernioplastia bilateral o se usaba malla de polipropileno (aunque la incidencia acumulada seguía siendo menos del 1%) (Hallén et al. 2012). En el año 2012, Tekatli y col. publicaron una revisión de la literatura médica relacionada con la infertilidad como efecto secundario de la hernioplastia con malla en hombres. El pronóstico se determinaba en función de distintas variables como perfusión testicular, volumen testicular, función gonadal o análisis del semen. La conclusión a la que llegaron es que no había efectos negativos sobre la fertilidad (Tekatli et al. 2012). De hecho, actualmente se recomienda el uso de mallas para la reparación de hernias inguinales en pacientes no pediátricos (Simons et al. 2009)

### *7. Evaluación del semen en caballos*

Hasta donde se conoce, no se han podido encontrar estudios en los que se haya realizado un análisis seminal a sementales tras ser sometidos a hernioplastia

laparoscópica, con una excepción. En uno de los sementales sometidos a hernioplastia laparoscópica en la estación con malla de polipropileno se realizó un espermiograma de control 4 meses después de la cirugía sin que se detectaran cambios significativos (Mariën 2001).

El análisis del semen se realiza en medicina reproductiva equina tanto para la preparación de dosis seminales en programas de inseminación artificial, como para el diagnóstico de problemas de subfertilidad. Existen diferentes métodos de extracción de semen como son el uso de la vagina artificial, el uso del condón, la inducción farmacológica de la eyaculación, la estimulación manual o la recogida directamente del epidídimo postmortem o postcastración. La extracción de semen mediante vagina artificial es la técnica más empleada y se puede realizar sobre la yegua, sobre un maniquí o con el caballo en la estación. Con el objeto de estimular al caballo se pueden emplear yeguas en estro, yeguas ovariectomizadas y estrogenizadas o incluso orina de yegua en celo. En caballos con problemas de dorso o que muestren dolor musculoesquelético durante la monta, se puede extraer semen de pie mediante estimulación manual o inducción farmacológica.

En la revisión bibliográfica de este trabajo, sólo se detallarán las técnicas y/o equipamientos usados para determinar los parámetros evaluados en este estudio.

Tras la extracción, el eyaculado debe llevarse rápidamente al laboratorio para su evaluación. En primer lugar se mide el volumen del eyaculado mediante una probeta (volumen total) y posteriormente se procede a su filtrado para separar la fracción de gel. El volumen libre de gel se mide y es el que se considera para calcular el número total de espermatozoides del eyaculado. Seguidamente, se comienza con la evaluación macroscópica en la que se determina el color, olor, aspecto y pH.

La evaluación microscópica determina parámetros relacionados con los espermatozoides tales como la motilidad, concentración, número total de espermatozoides y morfología espermática. Además, se puede realizar una citología del eyaculado para descartar la presencia de células inflamatorias. A esta evaluación se le conoce con el nombre de espermiograma básico.

Otras técnicas más complejas permiten evaluar la integridad de las membranas de los espermatozoides, sometiendo a éstos a un medio hipoosmótico, mediante tinciones vitales o usando una combinación de sondas fluorescentes y citometría de flujo.

Por último, cuando el semen va a ser transportado mediante refrigeración, se puede realizar la llamada “prueba de longevidad”. El semen es procesado (diluido o centrifugado con el diluyente de refrigeración) y almacenado a 5°C. A intervalos de tiempo (12, 24, 48, 72 horas) se evalúan sus características de motilidad y se observa como decaen (Estrada y Samper 2007, Baumber-Skaife 2011).

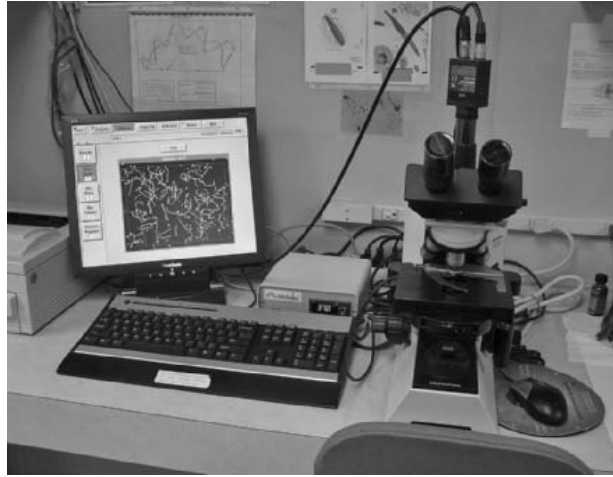
La concentración de espermatozoides se puede medir mediante hemocitómetro (cámara de Burker), sistema CASA (computer-assisted sperm analysis), espectrofotometría y citometría de flujo. A partir de la concentración y del volumen se determina el número total de espermatozoides del eyaculado.

La motilidad del semen se evalúa de forma subjetiva a través de un microscopio de contraste de fases u objetivamente mediante el sistema CASA (computer-assisted sperm analysis). Cuando se evalúa subjetivamente se determinan tres parámetros: la motilidad total (% de espermatozoides que muestra algún tipo de movimiento), la motilidad progresiva (% de espermatozoides que muestran un movimiento lineal rápido) y la velocidad (en un escala subjetiva de 0 a 4). Este método visual tiene el inconveniente

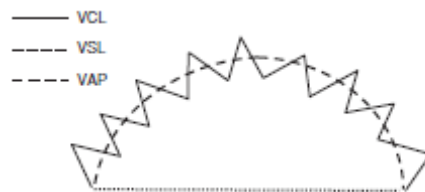
de ser poco preciso, poco exacto y presentar una gran variabilidad entre distintos observadores.

Con el fin de evitar los problemas descritos en el párrafo anterior se puede emplear el sistema CASA. Éste está compuesto por un microscopio de contraste de fases, una videocámara, un digitalizador de video, un ordenador y un programa informático específico (Figura 7). La imagen obtenida a través del microscopio se digitaliza. En ella los espermatozoides aparecen como partículas blancas sobre un fondo oscuro y el ordenador los reconoce/identifica de acuerdo al tamaño (número de pixels) y brillo (diferencia entre espermatozoides y otras partículas en suspensión). Posteriormente, se analiza el movimiento de los espermatozoides. Los fotogramas de las imágenes digitalizadas se analizan de forma secuencial y consecutiva para poder determinar el recorrido y trayectoria de los espermatozoides individualmente en un periodo de tiempo determinado. Esta operación se repite en varios campos visuales para obtener una media de estos parámetros. Cuanto mayor sea el número de espermatozoides y campos visuales analizados mayor será la precisión. Pero además el sistema CASA ofrece datos de otras características cinemáticas de los espermatozoides como la “velocidad lineal” (en inglés VSL,  $\mu\text{m/s}$ ), la “velocidad curvilínea” (en inglés VCL,  $\mu\text{m/s}$ ) y la “velocidad media de la trayectoria recorrida” (en inglés VAP,  $\mu\text{m/s}$ ) (Baumber-Skaife 2011) (Figura 8).





**Figura 7: Sistema CASA 1 (Fuente: Baumber-Skaife)**



**Figura 8: Esquema de los distintos parámetros cinemáticos del espermatozoide (Fuente: Baumber-Skaife)**

#### *8. Evaluación del flujo sanguíneo testicular mediante ecografía en modo Doppler pulsado.*

La ecografía es una técnica diagnóstica que se viene empleando en ginecología desde principio de los años 80 (Ginther 2014). Actualmente, esta técnica es fundamental en el día a día de la clínica reproductiva. Sin embargo, su uso no está tan extendido en la evaluación del semental como en la de la yegua. La ecografía en modo B se ha empleado principalmente en el semental para estimar la producción diaria de espermatozoides (DSO) (Thompson et al. 1979, Love et al. 1991). La DSO es una variable empleada habitualmente en el diagnóstico de patologías testiculares. Cuando la DSO observada está por debajo de la estimada es indicativo de problemas durante el

proceso de espermatogénesis. Por el contrario, cuando la DSO observada es superior a la esperada es indicativo de acumulación extragonadal de espermatozoides.

La ecografía en modo pulsado (o Doppler espectral) es un método precoz de diagnóstico de infertilidad en diversas especies, especialmente cuando es debida a alteraciones vasculares. Se han determinado correlaciones entre parámetros calculados mediante ecografía Doppler y parámetros seminales, como el número total de espermatozoides (Pinggera et al. 2008, Zelli et al. 2013). La detección de alteraciones vasculares en el testículo es crucial para diagnosticar y diferenciar correctamente ciertas patologías y evaluar la respuesta a los tratamientos instaurados.

La ecografía en modo pulsado (o Doppler espectral) ha ganado importancia en la evaluación andrológica en el hombre (Horstman et al. 1991, Appelbaum et al. 2013). En el caballo en cambio, es una técnica que no está muy extendida debido a que requiere de cierta experiencia y tiempo para llevarla a cabo correctamente. Además, los problemas de fertilidad en el semental no han sido estudiados con el mismo detalle que en las yeguas.

### *8.1 Equipamiento*

En primer lugar es necesario un ecógrafo que cuente con los modos de Doppler color y Doppler pulsado. Para acceder a los vasos del cordón espermático (específicamente a la porción tortuosa de la arteria testicular) es preferible una sonda lineal multifrecuencia (5-7.5 MHz). Por otro lado, para acceder a la porción marginal de la arteria testicular es más ventajoso el uso de sondas de frecuencias más elevadas (7.5-17 MHz) (Pozor y McDonnell 2004).

## 8.2 Ecografía en modo B

La ecografía en modo B ofrece una imagen de la anatomía y de la textura de los tejidos estudiados. Los testículos se exploran en un plano transversal y longitudinal, comparando uno con el otro. En contraste con otras especies, el mediastino del testículo en el semental no es visible mediante ecografía. En cambio, la vena central es muy característica y fácil de observar. Posteriormente, se exploran el epidídimo y el cordón espermático. Cualquier alteración en la apariencia, como por ejemplo la textura de los tejidos, la presencia de hidrocele o varicocele, debe ser documentada. Para terminar el examen ecográfico, la longitud (L), anchura (A) y altura (AL) de cada testículo debe ser medida. Con estos datos se puede determinar el volumen testicular ( $0.053 \times L \times A \times AL$ ) y predecir la DSO ( $0.024 \times [\text{volumen} - 0.76]$ ) (Love et al. 1991).

## 8.3 Ecografía Doppler color y pulsada

La técnica de la ecografía Doppler aplicada en este estudio tiene como objetivo evaluar el flujo y la perfusión sanguínea en los testículos. Ésta está basada en el principio de Doppler por el cual cuando un emisor de ondas de distinta naturaleza está en movimiento se produce una compresión o distensión de dichas ondas (aumento o disminución de la frecuencia) en función de si el emisor se acerca o aleja del receptor. En el caso de la ecografía, el emisor y receptor (sonda ecográfica) están estacionarios y los reflectores, que son los eritrocitos, están en movimiento (Figura 9).

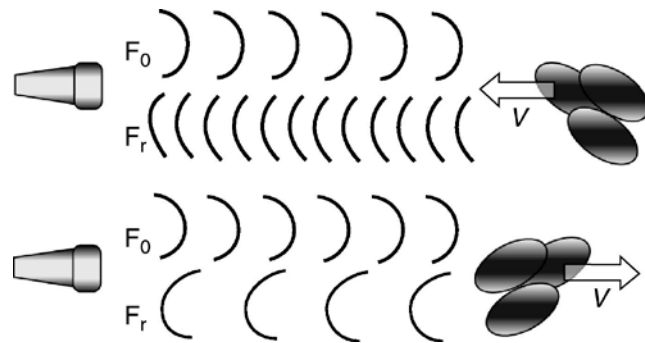


Figura 9: Efecto Doppler.

Los dos factores más importantes que influyen en la variación de la frecuencia son la velocidad de las partículas que reflejan los ecos y el ángulo con el que los ecos chocan con los reflectores y son devueltos a la sonda (ángulo Doppler o de insonación). Así pues, el efecto es máximo cuando el ángulo se aproxima a 0 ó 180°. Conforme el ángulo se acerca a 90° la diferencia en la frecuencia se minimiza, llegando a perderse dicho efecto cuando el ángulo es de 90° (Ginther 2004) (Figura 10).

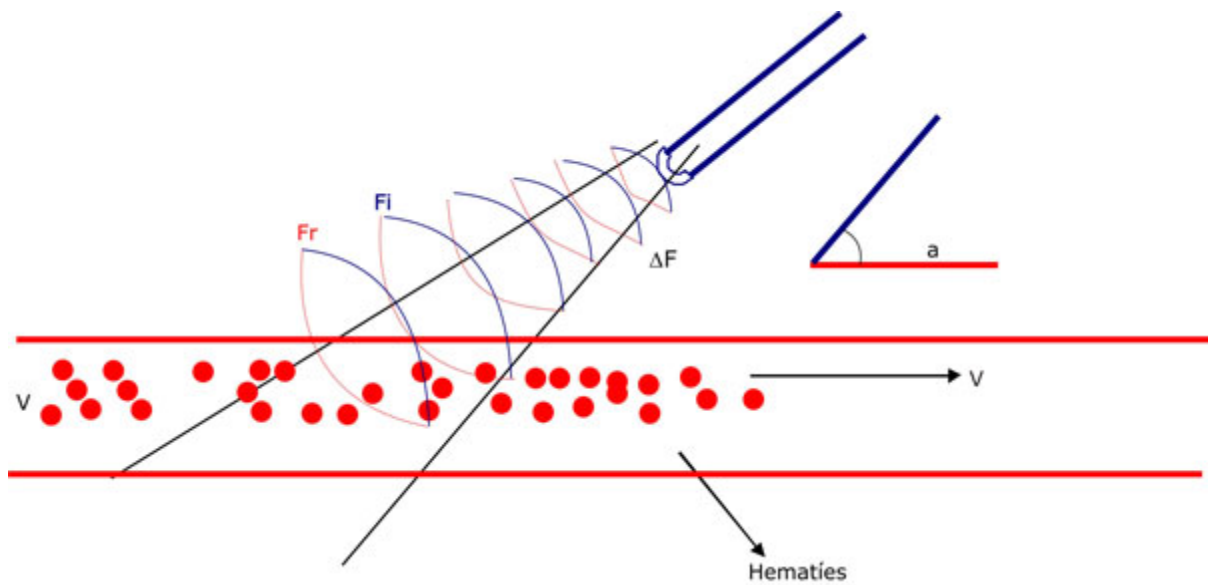


Figura 10: Representación del cambio de frecuencia en función del ángulo.

El ecógrafo recoge esa variación de la frecuencia y la representa de dos maneras: mediante un código de colores (ecografía Doppler color) que se superpone a la imagen anatómica (Figura 11) o mediante una gráfica que recoge el espectro de las distintas variaciones de la frecuencia (o velocidades) en función del tiempo, a lo largo del ciclo cardíaco (ecografía Doppler pulsada o espectral, Figura 12).



Figura 11: Ecografía Doppler color sobre el testículo, demostrando su vascularización (Fuente: Sabbag)

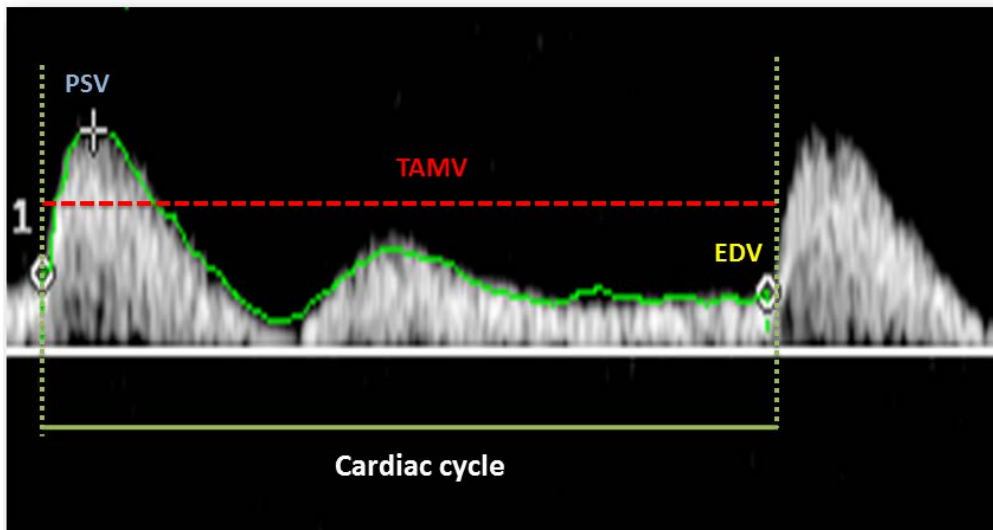
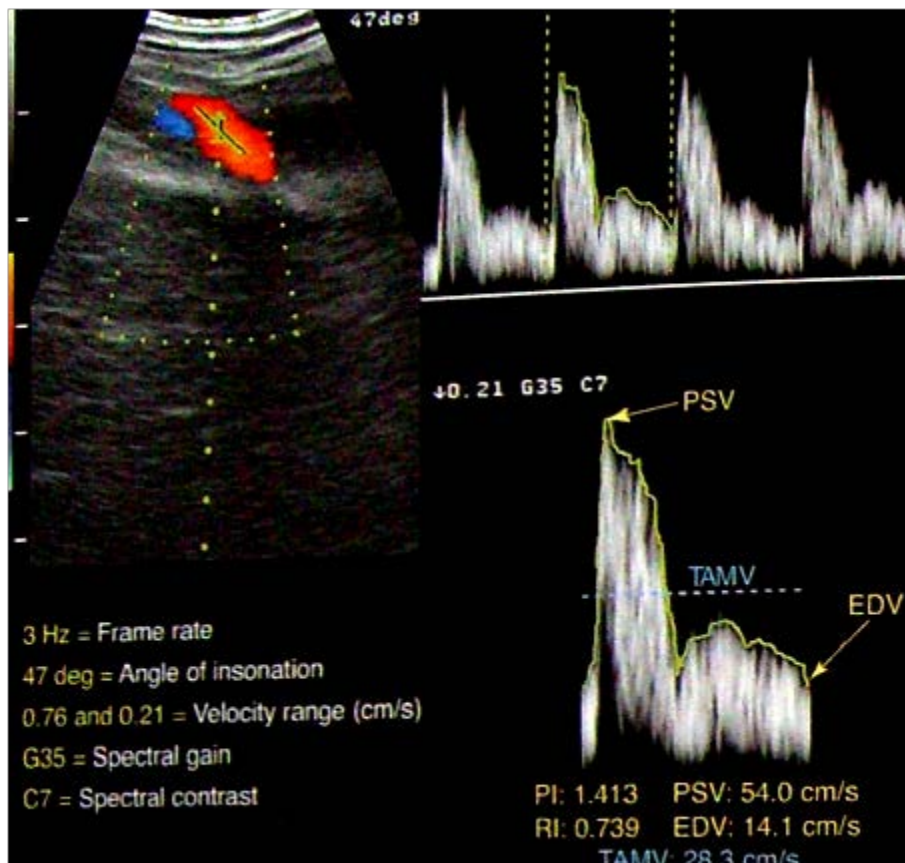


Figura 12: Espectro producido a partir de la variación de velocidad del flujo sanguíneo en una arteria.

PSV=peak systolic velocity; EDV= end diastolic velocity; TAMV= time-averaged mean velocity.

Además de la gráfica obtenida, el ecógrafo aporta una serie de parámetros de velocidad del flujo sanguíneo. Éstos son: 1) Pico de velocidad sistólica (PVS o en inglés PSV), esta medida corresponde al pico más alto de la gráfica generada. 2) Velocidad al final de la diástole (VDF o en inglés EDV), corresponde con el punto más bajo en la gráfica, justo antes del inicio de una nueva sístole. 3) Media de la velocidad máxima a lo largo

de todo el ciclo cardíaco (VM o en inglés TAMV) que representa la media de las velocidades máximas a lo largo de todo el ciclo cardíaco (Figuras 12 y 13). A partir de estos parámetros de velocidad se pueden calcular dos índices Doppler. Por un lado está el índice de resistencia (IR) que se obtiene del siguiente cociente:  $(PSV-EDV)/PSV$  y por otro el índice de pulsatilidad (IP) que se obtiene del siguiente cociente:  $(PSV-EDV)/TAMV$ . Estos índices presentan ciertas ventajas con respecto a la medición de las velocidades: 1) no dependen del ángulo con el que inciden los ecos, por lo que son más convenientes a la hora de evaluar vasos de trayecto tortuoso, 2) están correlacionados tanto con la hemodinámica proximal como con la distal al punto del vaso explorado, y 3) permiten evaluar la perfusión de los tejidos distalmente y detectar obstrucciones a nivel proximal. En concreto, un aumento del IR está relacionado con un aumento de la resistencia vascular y una disminución de la perfusión de los tejidos distales. En cuanto al IP, un aumento de éste está relacionado con una disminución de la perfusión de los tejidos distales. Ambos están muy correlacionados entre sí, por lo que uno solo de ellos es suficiente para describir la situación hemodinámica de los tejidos estudiados. De modo más práctico, el IR es más apropiado cuando hay lechos vasculares con flujo continuo durante la diástole (por ejemplo en el tejido cardíaco) y el IP es más apropiado cuando el flujo sanguíneo está ausente durante una parte o toda la diástole (por ejemplo en la arteria umbilical de los fetos) (Ginther 2007).



**Figura 13: Distintas velocidades del flujo sanguíneo e índices derivados de éstas (Fuente: Ginther).  
PSV=peak systolic velocity; EDV= end diastolic velocity; TAMV= time-averaged mean velocity.**

En resumen, mediante la ecografía Doppler color es posible determinar de manera subjetiva el grado de irrigación del órgano/tejido explorado, mientras que la ecografía Doppler pulsada o espectral permite un análisis objetivo y cuantitativo de las velocidades del flujo sanguíneo de un determinado vaso que irriga un determinado tejido.

En medicina humana la ecografía Doppler pulsada o espectral se emplea en diferentes campos como la cardiología (Arques et al. 2007), neurología (Aaslid et al. 1982), la oncología (Kaushik et al. 2003), la urología (Pinggera et al. 2008), la obstetricia (Parra-Saavedra et al. 2013), etc. Además se ha empleado para estudiar la perfusión testicular, tanto en adultos como en niños, con hernias inguinales reparadas mediante diferentes tipos de hernioplastia, concluyendo que los diferentes tipos de reparación no producen

variaciones significativas de parámetros tales como PSV, EDV, IR e IP o si las hay éstas son transitorias (Lima Neto et al. 2007, Ramadan et al. 2009, Koskal et al. 2010, Parelkar et al. 2011, Stula et al. 2012, Celebi et al. 2012, Bulus et al. 2013).

Algunas de las aplicaciones de la ecografía Doppler pulsada en el campo de la andrología son los siguientes: 1) diferenciación de la azoospermia obstructiva de la no obstructiva (disminución de la PSV e IR) (Schurich et al. 2009, Biagiotti et al. 2002); 2) diferenciación entre el varicocele con significado clínica y el que no (el ratio de la TAMV se encuentra disminuido en pacientes con infertilidad) (Tarhan et al. 2003); 3) permite diferenciar la orquitis de la orquitis isquémica (en la primera aumenta la PSV y disminuye el IR; en el segundo caso aumenta el IR) (Jee et al. 1997, Lefort et al. 2001); 4) permite identificar infarto testicular y necrosis, caracterizada por un incremento del IR (Sanders et al. 1994, López Milena et al. 2000).

En cuanto a la medicina veterinaria también se ha descrito su uso en vacas, perros y caballos (Köster et al. 2001, Bollwein et al. 2002, Pozor et al. 2002, Acosta et al. 2004, Ginther et al. 2004, Duque et al. 2009).

#### *8.4 Ecografía Doppler color y pulsada en sementales*

Mediante estas modalidades de ecografía se exploran dos porciones de la arteria testicular, la tortuosa (en el cordón espermático) y la marginal (parte dorsal y caudal del testículo, en contacto con el epidídimo). En primer lugar se emplea el modo Doppler color para identificar los vasos cuyo flujo se evaluará posteriormente mediante el modo Doppler pulsado. Cuando se localiza la arteria testicular en sementales el ángulo Doppler debe ser de entre 20 y 60° (Pozor and McDonnell 2004, Bollwein et al. 2008).

En el año 2004 Pozor y McDonnell describieron por primera vez el uso de la ecografía Doppler pulsada o espectral para caracterizar el flujo sanguíneo de los testículos en



sementales sanos y establecer una serie de valores de referencia de parámetros tales como la PSV, EDV, IR, e IP. En el mismo trabajo, los autores dejaron entrever las posibles variaciones detectadas con esta técnica en la vascularización de testículos con diversas patologías tales como hidrocele, varicocele, atrofia, torsión de 180° y tumores. Sin embargo, solamente en los casos de varicocele se observó cierta tendencia hacia el incremento en la PSV, IR e IP. En el resto de los casos, los valores permanecieron dentro del rango de normalidad (Pozor y Mc Donnell 2004).

La espermatogénesis es un proceso altamente metabólico, por lo tanto es fundamental que se mantenga una buena vascularización del testículo. De hecho, se ha demostrado que los índices Doppler son buenos indicadores de la espermatogénesis en diversas especies (Pinggera et al. 2008, Zelli et al. 2013). Incluso en el hombre, se ha documentado una correlación significativa entre la DSO y parámetros Doppler tales como la PSV y el IR, en contraposición a otros indicadores como el volumen testicular y la concentración plasmática de FSH (Biagiotti et al. 2002). En sementales también se han encontrado correlación de los índices Doppler con el número total de espermatozoides, con el porcentaje de espermatozoides motiles progresivos y el porcentaje de espermatozoides mótils progresivos con morfología normal (Pozor 2014).

En 2006, Boyd y col. observaron variaciones estacionales en la perfusión testicular con un incremento significativo del flujo sanguíneo (aumentó la PSV, el flujo sanguíneo arterial total y la proporción del flujo sanguíneo arterial total) durante la temporada reproductiva. Dichos autores sugirieron, que quizá estos cambios en la perfusión testicular fueran responsables de la bajada en la producción espermática observada estacionalmente en équidos (Pozor 2007, Boyd 2006). Incluso se ha sugerido que la administración de pentoxifilina (agente reológico que mejora la microcirculación en

general) podría alargar la duración de la estación reproductiva en sementales (Pozor et al. 2011).

### *9. Evaluación histológica del testículo*

Al igual que en las secciones anteriores, la revisión bibliográfica desarrollada es somera y con el único objetivo de poner al lector en antecedentes en relación a los métodos empleados en este estudio. Un hecho que nos ha llamado la atención es la gran heterogeneidad en la metodología existente a la hora de preparar y evaluar histológicamente el tejido testicular.

En primer lugar conviene especificar que la preparación del tejido testicular es diferente a otros tejidos. Dependiendo de las técnicas de corte, fijación y preparación de la muestra de tejido testicular pueden aparecer artefactos que dificultan la evaluación histológica. Se debe evitar el uso de formol ya que éste produce deshidratación y contracción celular, además de distorsión y pérdida de detalle de la cromatina, dificultando la identificación de los distintos tipos de células germinales (de Krester y Holstein 1976, McLachlan et al. 2007). Para la fijación del tejido testicular es más apropiado el uso del medio de Bouin o formalina neutra tamponada seguida de dicho medio (Nakai et al. 1993, McLachlan et al. 2007). Otros medios que también se pueden emplear son el de Zenker, glutaraldehído, formalina seguida de inclusión en metacrilato de Glicol (Creasy 1997), medio modificado de Davison (Lanning et al. 2002), solución de Cleland y solución de Stieve (Krester y Holstein 1976). Una vez fijadas, incluidas y cortadas en secciones de grosor apropiado para la evaluación microscópica, se pueden emplear diversas tinciones como Hematoxilina-Eosina, Tricrómico de Masson y ácido periódico-Schiff, de acuerdo a las estructuras que se quieran destacar.

A la hora de evaluar histológicamente el tejido testicular es fundamental identificar correctamente los distintos tipos de células germinales que corresponden a las diferentes fases de la espermatogénesis, con el fin de establecer ratios entre las diferentes células o escalas numéricas que se detallará más adelante. En general las características que se deben evaluar son las siguientes: 1) homogeneidad/heterogeneidad del tejido, 2) diámetro de los túbulos seminíferos, si está patente su luz y la presencia/ausencia de fibrosis peritubular, 3) la presencia y tipo de células germinales y si hay disminución o ausencia de éstas, 4) si la espermatogénesis cesa, y si es así, en qué etapa, 5) la presencia de células de Sertoli y sus características o si las únicas células del epitelio seminífero son éstas, 6) si hay hialinización de los túbulos seminíferos, término usado cuando el tejido examinado no presenta células germinales, ni de Sertoli hay una marcada fibrosis y el acúmulo de una sustancia hialina amorfa similar a la membrana basal del túbulo, 7) tejido intertubular, la presencia de células de Leydig y sus características, si éstas forman micronódulos, si hay algún tipo de células inflamatorias con una distribución que puede ser desde focal, hasta afectar todo el testículo (orquitis granulomatosa), y 8) otras alteraciones como microlitiasis, túbulos disgenésicos, etc (de Krester y Holstein 1976, McLachan et al. 2007).

Una vez evaluadas estas características las muestras se pueden clasificar (tabla 4), teniendo en cuenta que los patrones histológicos del tejido testicular pueden llegar a ser muy heterogéneos y se deben estudiar múltiples cortes histológicos para llegar a una conclusión.

Normal:	Espermatogénesis completa en toda la biopsia, el tejido intertubular presenta un aspecto normal
Hipoespermatogénesis	La celularidad del epitelio germinal está reducida, todas las fases de la espermatogénesis están presentes pero de manera reducida
Cese de la maduración de las células germinales	La espermatogénesis cesa en una determinada fase, habitualmente en los espermatocitos primarios o secundarios. La diferencia con la hipoespermatogénesis es que no hay espermatozoides
Síndrome de células de Sertoli	El intersticio es normal, el diámetro luminal es normal o está levemente disminuido, la membrana basal tienen una apariencia normal. Sólo hay células de Sertoli.
Hialinización de los túbulos seminíferos	El diámetro de los túbulos seminíferos está disminuido, con la membrana basal muy engrosada y la presencia de colágeno en la luz tubular. Ausencia de epitelio germinal
Patrones mixtos	

**Tabla 4: Clasificación de las muestras de tejido testicular de acuerdo a de Krester y Holstein 1976 y McLachan et al. 2007**

También se ha tratado de cuantificar las observaciones histológicas con el fin de facilitar su comparación. Los métodos de análisis cuantitativos se pueden dividir en: 1) morfométricos, estudian el diámetro del túbulo seminífero o el grosor de su membrana basal, 2) celulares, basados en el recuento del número y tipo de células y los diferentes ratios entre éstas y 3) mixtos (Coburn et al. 1993).

Para el análisis histológico cuantitativo de muestras de tejido testicular se han empleado diversas escalas descritas por distintos autores. En 1970 Johnsen desarrolló un sistema que cuantificaba tres características de las biopsias testiculares. En primer lugar se evaluaban 100 túbulos seminíferos, se puntuaban en función del estadio más desarrollado que presentaban sus células germinales y posteriormente se calculaba el

valor medio de cada biopsia (Figura 16). En segundo lugar se clasificaban las células de Sertoli en función de si su recuento era normal, disminuido y de la existencia o no de hiperplasia y su grado. Finalmente, se medía el diámetro de los túbulos seminíferos (Johnsen 1970). Este sistema fue simplificado 6 años más tarde por de Krester y Holstein (Figura 17). Finalmente, la última modificación fue introducida en 1998 por Bergmann y Kliesch, quienes propusieron que era más adecuado determinar el tanto por ciento de túbulos con espermátidas elongadas (Bergmann y Kliesch 1998) (Figura 18). Aunque queda fuera del propósito de este estudio, estas modificaciones están relacionadas con los distintos cuadros patológicos de infertilidad que se pueden diagnosticar en el hombre y cuya descripción, clasificación y etiología son distintas y están mucho más estudiadas y desarrolladas que en la medicina veterinaria.

**Score 10: Complete spermatogenesis with many spermatozoa. (spermatozoa are here defined as cells having achieved the small head form of the spermatozoon). Germinal epithelium organized in a regular thickness leaving an open lumen.**

**Score 9: Many spermatozoa present but germinal epithelium disorganized with marked sloughing or obliteration of lumen.**

**Score 8: Only few spermatozoa (<5-10) present in section.**

**Score 7: No spermatozoa but many spermatids present.**

**Score 6: No spermatozoa and only few spermatids (<5-10) present.**

**Score 5: No spermatozoa, no spermatids but several or many spermatocytes present.**

**Score 4: Only few spermatocytes (<5) and no spermatids or spermatozoa present.**

**Score 3: Spermatogonia are the only germ cells present.**

**Score 2: No germ cells but Sertoli cells are present.**

**Score 1: No cells in tubular section.**

**Figura. 16: Escala de Johnsen (Fuente: Johnsen)**

<i>Score</i>	<i>Histological criteria</i>
10	Full spermatogenesis
9	Many late spermatids, disorganized epithelium
8	Few late spermatids
7	No late spermatids, many early spermatids
6	No late spermatids, few early spermatids
5	No spermatids, many spermatocytes
4	No spermatids, few spermatocytes
3	Spermatogonia only
2	No germinal cells, Sertoli cells only
1	No seminiferous epithelium

Figura. 17: Escala de Johnsen modificada por de Krester y Holstein (Fuente: de Krester y Holstein)

Percentage of tubules with elongated spermatids (%)	Score	Classification
100-95	10	Normal spermatogenesis
94-85	9	
84-75	8	
74-65	7	
64-55	6	Mixed testicular atrophy
54-45	5	
44-35	4	
34-25	3	
24-15	2	
14-10	1	
9-1	0.9-0.1	Predominantly atrophy of seminiferous epithelium and occurrence of single elongated spermatids
0	0	Sertoli-cell-only, spermatogenic arrest, testicular atrophy, tubular shadows

Figura. 18: Escala según Bergmann y Klisch (Fuente: Bergmann y Klisch)

Otros sistemas se basan en el recuento y tipificación de células germinales y de Sertoli en un corte perfectamente perpendicular a la luz de los túbulos seminíferos (Steinberger y Tjioe 1968, Leonard et al. 1972, de Krester et al. 1974), en la relación entre el número de células germinales y de Sertoli (ya que su número no suele variar salvo procesos

patológicos extremos) sobre secciones tanto transversales como longitudinales de los túbulos seminíferos (Skakkebaek y Heller 1973) o en el recuento de las células germinales y de Sertoli y su relación con la longitud de la circunferencia del túbulo seminífero (Zuckerman et al. 1978).

### *9.1 Evaluación histológica del testículo en équidos*

La histología del parénquima testicular ofrece información del estado de la espermatogénesis en aquellos sementales que son infértiles o subfértiles. También se emplea el diagnóstico anatomopatológico en tumores testiculares. La información aportada por los estudios anatomopatológicos permite confirmar el diagnóstico, orientar el tratamiento y estimar el pronóstico (Blanchard 2011).

Las muestras pueden ser evaluadas cualitativa o cuantitativamente para determinar qué fase de la espermatogénesis, componente celular o estructura tisular están afectadas (Threlfall 2011). La principal indicación de la biopsia testicular en sementales y su posterior estudio anatomopatológico es la azoospermia/oligospermia. Antes de realizar una biopsia, que en mayor o menor medida es un proceso invasivo, conviene descartar problemas relacionados con la eyaculación, principal causa de la azoospermia en équidos (Varner et al. 2000, Ball 2008). La causa más común de azoospermia de origen testicular es la degeneración testicular y puede suponer hasta un 50% de los casos (Threlfall 2011). La degeneración testicular presenta características histológicas tales como fibrosis, disminución del número de espermatogonias, espermatocitos, espermátidas elongadas y redondas y una reducción de la razón entre células germinales y de Sertoli (Metcalf 2007).

Al margen de su utilidad diagnóstica, la cuantificación de la espermatogénesis se ha empleado en el campo de la investigación. Por ejemplo, se ha estudiado el efecto de la

edad, la estacionalidad e incluso las propias secuelas de la biopsia testicular en la espermatogénesis (Johnson et al. 1991, DelVento et al. 1992).



## ***Materiales y Métodos***

## **Materiales y Métodos**

### *1. Animales:*

Este estudio fue llevado a cabo de acuerdo a las normativas relacionadas con el bienestar animal de la Unión Europea, de España y de la comunidad autónoma de Extremadura, con una evaluación positiva por parte del Comité de Ética de Experimentación Animal de la Universidad de Extremadura.

Para el estudio se emplearon 7 caballos machos enteros (tabla 5). Cuatro eran Pura Sangre Lusitano y tres Pura Raza Español con edades comprendidas entre los 4 y 12 años. Estos caballos pertenecían al propio hospital o fueron cedidos temporalmente por particulares durante el estudio. Todos ellos fueron alojados en las instalaciones del Hospital Clínico Veterinario de la Facultad de Veterinaria de Cáceres en boxes de unos 12 m<sup>2</sup>. Todos ellos se alimentaron con heno de hierba y el mismo pienso comercial. El agua se suministraba mediante bebederos automáticos. Ninguno de los caballos había padecido hernia inguinal, salvo el número 5. Éste había padecido una hernia inguinal crónica en el lado derecho. Dicho testículo se había castrado previamente en el mismo centro. Durante esa cirugía se observó que dicho anillo inguinal estaba anormalmente agrandado. Por otro lado, se constató laparoscópicamente que el anillo inguinal izquierdo era normal y no había habido historia de hernia inguinal. En todos los animales se realizaron exámenes físicos, palpación rectal, ecografía, hematología y bioquímica para comprobar que el estado de salud general era bueno y descartar la presencia de patologías que pudiera afectar o estar relacionadas con el aparato reproductor. El estudio se comenzó en cada caballo entre Junio y Enero, según la disponibilidad de los mismos.

Caballo	Raza	Edad
1	Lusitano	7
2	Lusitano	7
3	Lusitano	5
4	Pura Raza Español	4
5	Pura Raza Español	12
6	Pura Raza Español	4
7	Lusitano	12

**Tabla 5: Caballos empleados en el estudio**

## *2. Procedimiento quirúrgicos:*

### *2.1 Hernioplastia*

Los caballos fueron sometidos a hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo de peritoneo de acuerdo a la técnica descrita por Wilderjans y col. en el año 2012.

En la semana previa a la cirugía se cambió gradualmente la dieta de los caballos, pasando de una dieta basada en forraje a un sustituto concentrado de fibra con el fin de reducir el volumen intestinal. Veinticuatro horas antes de la cirugía los caballos se dejaron completamente en ayuno, aunque tenían libre acceso a agua.

Para esta cirugía se emplearon los siguientes equipos e instrumentales.

- Torre de videoendoscopia compuesta de un monitor, una unidad para la conexión de la cámara, un grabador de DVD y una fuente de luz para la óptica.
- Insuflador laparoscópico de CO<sub>2</sub>.

- CO<sub>2</sub> de uso médico para distender el abdomen
- Tubo para la insuflación del CO<sub>2</sub>
- 4 cánulas laparoscópicas con un lumen de 10 mm de diámetro con sus respectivos trocares romos y reductores para instrumentos de 5 mm.
- 2 cánulas laparoscópicas con un lumen de 12 mm de diámetro y sus respectivos trocares traumáticos dotados con un mecanismo de seguridad para evitar la perforación de vísceras abdominales.
- Telescopio de 10 mm de diámetro, 57 cm de longitud y un ángulo de la óptica de 0° grados.
- 2 pinzas laparoscópicas tipo Kelly
- Tijeras laparoscópicas tipo Mayo y Metzembaun
- Grapadora laparoscópica, con grapas de 4.8 mm de altura, de nombre comercial Endohernia® (Covidien, Connecticut, USA)
- Paños y material general de cirugía

Una hora antes de la cirugía los caballos recibieron una dosis de bencil-penicilina sódica (22000 UI/kg, vía intravenosa), gentamicina (6.6 mg/kg, vía intravenosa) y fenilbutazona (4.4 mg/ kg, vía intravenosa).

Las cirugías se realizaron en una sala cerrada y habilitada para tal propósito, en un potro de contención. Todos los caballos se operaron siguiendo el mismo procedimiento y por los mismos cirujanos. Cada caballo se introdujo en el potro de contención y se le pelaron ambas fosas paralumbares, desde la 15° costilla hasta unos 10 cm caudal a la tuberosidad coxal. Se sondó la vejiga de la orina para que ésta no interfiriera con el campo quirúrgico. A continuación se preparó quirúrgicamente la zona de abordaje con povidona yodada y alcohol.

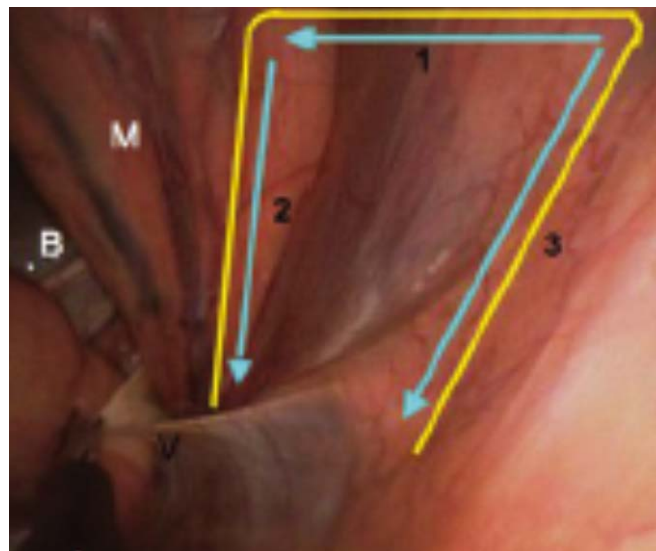
La sedación consistió en el siguiente protocolo: en primer lugar se administró un bolo intravenoso de medetomidina ( $5\mu\text{g}/\text{kg}$ ) y morfina ( $50\mu\text{g}/\text{kg}$ , diez minutos más tarde). El mantenimiento durante la cirugía consistió en una infusión continua de medetomidina ( $5\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{hora}$ ) y morfina ( $30\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{hora}$ ). Además se infiltraron cada uno de los puertos laparoscópicos con 10-20 ml de mepivacaína.

El primer puerto se colocó por encima del vientre muscular del músculo oblicuo interno, a mitad de distancia entre la tuberosidad coxal y la última costilla. Una vez comprobado que la cánula estaba en la cavidad abdominal, se insufló  $\text{CO}_2$  hasta alcanzar una presión máxima de 12 mm Hg. El segundo puerto, para introducir el telescopio, se creó en el 17° espacio intercostal, 5 cm ventral respecto a la tuberosidad coxal. El tercero, también en la fosa paralumbar, se creó a nivel del anillo inguinal, lo más caudal y proximal al pliegue de la babilla (Figura 19).



**Figura 19: Posición de los puertos y cánulas laparoscópicas en la fosa paralumbar.**

Una vez que los puertos estuvieron listos con sus respectivas cánulas comenzó la cirugía. Primero se infiltró con anestesia local (mepivacaína) la zona de donde se obtenía el colgajo de peritoneo, de unos 10 cm de alto y 7 de ancho en forma de “U” invertida, cuyo vértice más caudo-medial estaba a la altura del canto lateral del anillo inguinal interno (Figura 20). A continuación se comenzó a disecar el colgajo de peritoneo con las tijeras laparoscópicas y a separarlo de la grasa retroperitoneal en la medida de lo posible (Figura 21). Una vez disecado, se rotó caudo-ventralmente y se llevó su vértice más craneo-dorsal hasta la pared abdominal situada medial al canto medial del anillo inguinal interno, por debajo del conducto deferente (Figura 22). Con esta maniobra se cubrió el anillo inguinal interno y el cordón espermático parcialmente. Posteriormente el colgajo se fijó con 5-10 grapas laparoscópicas a la pared abdominal y a lo largo del anillo (Figura 23). El proceso se repitió con el anillo opuesto. Una vez terminada la cirugía, se suturaron los puertos laparoscópicos en tres capas, muscular, subcutáneo y piel.



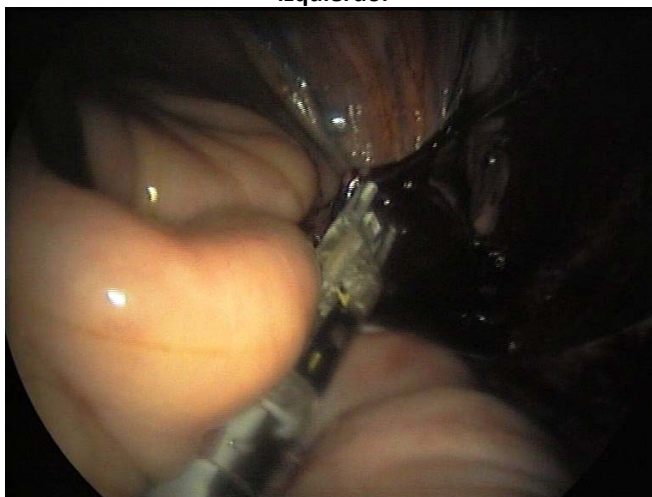
**Figura 20: Anillo inguinal interno, lado izquierdo. Las líneas muestran la zona de peritoneo a infiltrar con anestesia local antes de disecarla (Fuente: Wilderjans et al. 2012). B= vejiga; M=mesorquio.**



**Figura 21: Disección del colgajo peritoneal, anillo inguinal izquierdo.**



**Figura 22: Transposición del colgajo peritoneal hacia el canto caudomedial del anillo inguinal izquierdo.**



**Figura 23: Fijación del colgajo a la zona caudo-medial del anillo izquierdo mediante grapas laparoscópicas.**

Tras la cirugía los caballos sólo recibieron una dosis extra de penicilina. La fenilbutazona se continuó a dosis de 2.2 mg/kg dos veces al día durante un par de días. Las incisiones de los puertos se limpiaron a diario tras la cirugía y el caballo permaneció en reposo dentro del box durante al menos 6 semanas. Además, mientras los caballos permanecieron en nuestras instalaciones se controlaron diariamente para detectar la aparición de cualquier patología, relacionada o no con la cirugía.

### *2.2 Laparoscopia de control*

Tres meses después de la cirugía se efectuaron laparoscopias exploratorias de control para comprobar el correcto cierre de los anillos y detectar la presencia de excesiva fibrosis o estenosis. El protocolo de ayuno, antibioterapia, antiinflamatorios, preparación quirúrgica, sedación, anestesia local y cuidados postoperatorios fue similar al descrito para la hernioplastia, con la diferencia de que se usaron sólo dos puertos, los correspondientes con el primero y el segundo usados en la hernioplastia.

### *2.3 Castración*

Un año más tarde, cinco de los caballos (caballos nº 1, 2, 3, 4 y 6) se castraron con el fin de obtener los testículos, el cordón espermático y el epidídimo para su estudio anatomopatológico. Como grupo control se analizaron los testículos de otros 4 caballos remitidos al hospital para castración, de edades comprendidas entre los 4 y 6 años y sin historia o patología relacionada con el aparato reproductor. Las castraciones se realizaron en decúbito dorsal, bajo anestesia general mediante abordaje inguinal de acuerdo a la descripción de Kummer y col. (Kummer et al. 2009). Para evitar artefactos en el posterior estudio anatomopatológico no se empleó anestesia local ni en el testículo, ni en el cordón espermático.

Tras la castración, los caballos fueron dados de alta y el estudio se consideró acabado.



### *3. Palpación e inspección*

El escroto, testículos y cordón espermático fueron evaluados visualmente y mediante palpación al menos antes de cada extracción de semen y ecografía

### *4. Análisis del semen*

La producción diaria de espermatozoides (DSO) se calculó para cada caballo tras estabilizarse las reservas extragonadales de espermatozoides durante 5-7 días en función del tamaño testicular del animal. De cada caballo se recogieron eyaculados antes de la cirugía y tras ésta a los 3, 6 y 12 meses (T0, T3, T6, T12). Estos tiempos fueron elegidos con el propósito de detectar variaciones debidas al trauma quirúrgico (cambios inmediatos y temporales T3), al cambio de estación (T6) y finalmente, un año más tarde para detectar los posibles efectos a medio plazo de la cirugía en la misma época del año (T12).

Los eyaculados se recogieron usando un potro (maniquí) para dicho propósito o bien en la estación, mediante una vagina artificial tipo Missouri, lubricada con gel no espermicida, calentada a unos 45-50 grados Celsius y dotada de un filtro en su recipiente de recolección para separar la fracción de gel del resto del eyaculado. Los eyaculados se transportaron inmediatamente al laboratorio para su procesado y posterior análisis. Se midió el volumen libre de gel mediante una probeta y la concentración espermática, antes de diluir el semen. La producción diaria de espermatozoides (DSO) se calculó multiplicando el volumen de semen obtenido y la concentración de espermatozoides, obtenida mediante espectrofotometría (Sperma-cue®, Minitub iberica, Barcelona, España). Seguidamente, el semen se diluyó en un medio comercial (INRA 96, IVM Technologies, Francia) atemperado a 37°C hasta obtener una concentración de  $50 \times 10^6$  espermatozoides/ml para realizar el análisis de motilidad espermática. Los

parámetros de motilidad espermática fueron determinados mediante el sistema CASA (Computer Assisted Sperm Analysis, ISAS, Proiser, Valencia, España). Para dicho análisis se examinaron 60 imágenes digitalizadas por segundo en un mismo campo obtenidas mediante un microscopio de contraste de fases, con un objetivo de 10 aumentos. Se empleó la función “playback” para descartar las partículas identificadas erróneamente como espermatozoides. El programa informático del sistema CASA se configuró de manera que los espermatozoides con una VAP inferior a 15  $\mu\text{m/s}$ , fueron considerados inmóviles; los espermatozoides que se desviaban menos de un 45% de una trayectoria recta se definieron como espermatozoides con motilidad lineal y aquellos espermatozoides con una VCL por encima de 45  $\mu\text{m/s}$ , se clasificaron como espermatozoides de movimiento rápido.

Los parámetros cinemáticos calculados fueron los siguientes: porcentaje total de espermatozoides móviles (MOT%), porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva (PMOT %), velocidad rectilínea (mean straight-line velocity, VSL, expresada en  $\mu\text{m/s}$ ), velocidad curvilínea (mean curvilinear velocity, VCL, expresada en  $\mu\text{m/s}$ ) y la velocidad media (average path velocity, VAP, expresada en  $\mu\text{m/s}$ ).

#### *4.1 Estudio estadístico de los datos obtenidos del análisis del semen*

Se calculó la media y la desviación estándar de los valores obtenidos en cada caballo y se agruparon de acuerdo a los tiempos de recogida del semen (T0, T3, T6, and T12). Se determinó la distribución de las variables mediante la prueba de Shapiro-Wilk. En aquellos casos en los que las variables presentaban una distribución normal se aplicó el análisis de varianza, contrastando posteriormente los valores obtenidos en los distintos tiempos mediante el método de Bonferroni. Cuando las variables no siguieron una distribución normal se compararon aplicando la prueba Kruskal-Wallis. El nivel de

significación se estableció por debajo de 0,05. Todos estos datos fueron estudiados con el programa informático SPSS 19 (IBM, Chicago IL).

##### *5. Evaluación del flujo sanguíneo testicular*

El estudio ecográfico del flujo sanguíneo testicular se realizó antes de la cirugía y a los 3, 6 y 12 meses después de ésta (T0, T3, T6, T12). Durante todo el estudio las mediciones fueron realizadas por la misma persona para evitar la variabilidad inter-individual. El examen ecográfico se realizó en un potro de contención, bajo sedación con un bolo de xilacina intravenoso (0.5 mg/kg). Dicha dosis fue elegida ya que no produce efectos detectables sobre el flujo sanguíneo testicular (Pozor et al. 2002). El examen ecográfico se realizó con sondas lineal y sectorial, ambas multifrecuencia de 5-7,5 MHz (Mylab 30; Esaote, Genova, Italia). En primer lugar se realizó un examen ecográfico de los testículos mediante ecografía en modo bidimensional para descartar anomalías anatómicas o tisulares. Posteriormente, se empleó el modo Doppler color para identificar las estructuras vasculares, en concreto la arteria testicular en su porción tortuosa (en el cordón espermático) y marginal (margen dorso-caudal del testículo). Una vez identificadas estas porciones, se midió la velocidad del flujo sanguíneo mediante ecografía Doppler pulsado usando una frecuencia de 7,5 MHz. La ventana de medición (“Doppler gate”) se colocó sobre la arteria testicular haciéndola coincidir con su diámetro total. El ángulo Doppler fue de entre 30 y 60° (Figura 24). Los parámetros de velocidad estudiados fueron: el pico de velocidad sistólica (PSV, cm/s), la velocidad al final de la diástole, justo anterior al inicio de una nueva sístole (EDV, cm/s) y la media de la velocidad máxima a lo largo de todo el ciclo sístole/diástole (TAMV cm/s). A partir de estos parámetros se calcularon los índices de Pulsatilidad (IP) y de Resistencia

(IR) (Figura 25). De cada uno de los parámetros se tomaron de 3 a 5 medidas en cada una de las localizaciones.

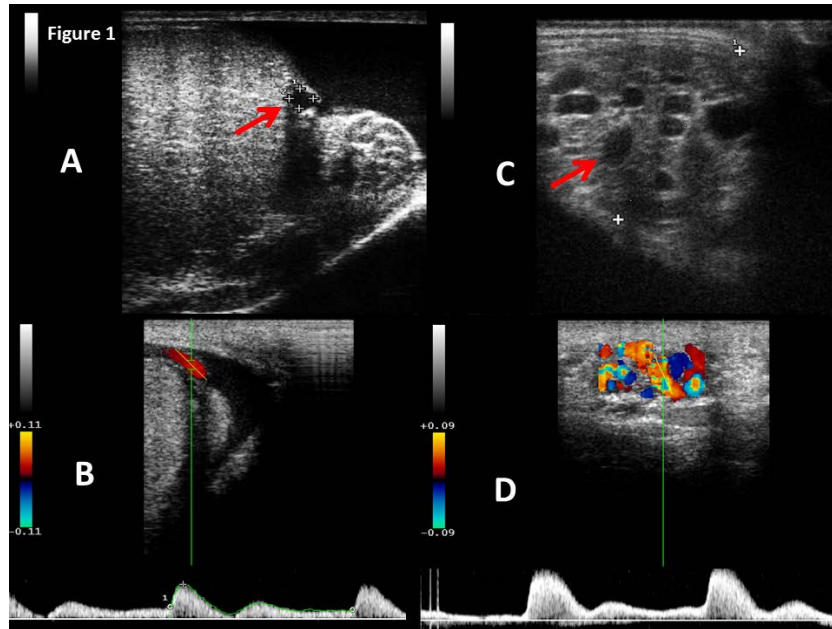


Figura 24: Colocación de la ventana de medición sobre la porción marginal (izquierda) y tortuosa (derecha) de la arteria testicular. En la parte inferior de la imagen se puede observar el espectro de velocidades registrados durante el ciclo cardíaco.

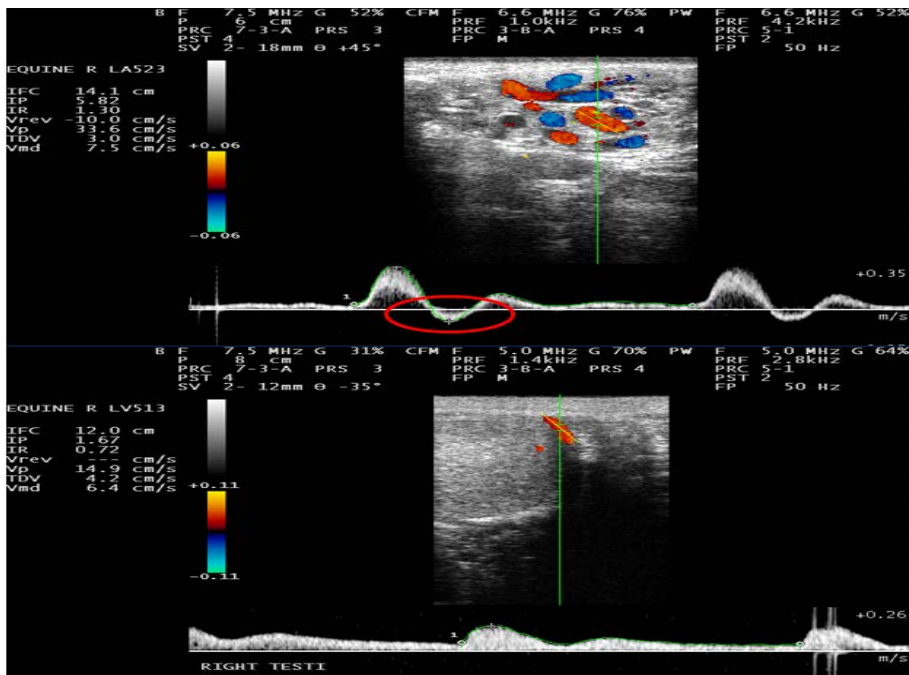


Figura 25: Medición de los parámetros de velocidad del flujo sanguíneo e índices Doppler en ambas porciones de la arteria testicular

### *5.1 Estudio estadístico de los datos obtenidos del flujo sanguíneo*

Se calculó la media y la desviación estándar de los valores obtenidos en cada caballo y se agruparon de acuerdo a los tiempos de evaluación ecográfica (T0, T3, T6, and T12). Se determinó la distribución de las variables mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Las medias fueron contrastadas por pares mediante la prueba t para muestras independientes, cuando las variables presentaron una distribución normal. Cuando las variables no siguieron una distribución normal se compararon aplicando la prueba U de Mann Whitney. El nivel de significación se estableció por debajo de 0,05. Todos estos datos fueron estudiados con el programa informático SPSS 19 (IBM, Chicago IL).

### *6. Estudio anatomopatológico*

Tras la escisión quirúrgica, los testículos (10 de caballos sometidos a hernioplastia y 7 de caballos control) fueron remitidos al Servicio de diagnóstico de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Veterinario de la UEX para su valoración morfológica.

En el laboratorio, los órganos fueron evaluados macroscópicamente recogiendo todos aquellos datos de interés. Se seccionaron sagitalmente los testículos (Steril Surgical Blades. Braun) y se procedió a la toma de una muestra con un tamaño de 1´5 x 1 x 0´5 cm de parénquima de la porción central de una de las secciones del testículo. También se recogieron muestras representativas de epidídimo y de la red pampiniforme. Dichas muestras se introdujeron en un tarro con tapa precintable (Deltalab) que contenía un volumen adecuado de líquido de Bouin (Panreac). Tras su correcta fijación, las muestras fueron introducidas en un cassette de inclusión tisular (Scharlau) siendo procesadas en el procesador de tejidos Leica TP 1020. La primera etapa de este proceso correspondió a la deshidratación o eliminación del agua del tejido a través de una cadena ascendente

(70%, 96% y 100%) de etanol (Panreac). La segunda etapa fue el aclaramiento y en ella, gracias al empleo de xilol (Scharlau), se facilitó la penetración en el tejido del medio de inclusión. El procesado finalizó con la etapa de inclusión, que correspondió a la fase de infiltración de la muestra con el medio de inclusión favoreciendo su dureza y facilitando la obtención de los posteriores cortes. El medio de inclusión empleado fue parafina plástica de 56-58°C (Scharlau).

Tras la finalización del procesado se realizaron los correspondientes bloques utilizando moldes metálicos precalentados (Estación DDM0065 Medim) y parafina plástica de 56-58°C (Scharlau) fundida y suministrada a través del dispensador de parafina P Selecta. Los bloques se solidificaron mediante una estación de refrigeración (DDM0064 Medim). De los bloques obtenidos se realizaron cortes de 5 µm de grosor (Microtomo Leica RM 2255/Cuchillas Deshechables Leica DB80 HS) que se extendieron en un baño termostático (P Selecta), siendo recogidos posteriormente mediante portaobjetos de banda mate (Thermo scientific. Menzel-Gläser) y secados al aire para evitar su desprendimiento. Antes de su tinción los cortes se desparafinaron en estufa a 60°C (Eurotherm) y las secciones se colorearon con técnicas histoquímicas de rutina necesarias para su evaluación (Hematoxilina-Eosina, Van Gieson y PAS) siendo protegidas mediante la colocación de un cubreobjetos de 24x60mm (Menzel-Gläser), previa deshidratación del corte en una cadena ascendente de etanol y aclarado en varios baños de xilol, gracias al empleo del medio de montaje Eukitt®.

La valoración microscópica y posterior captura de imágenes representativas de las alteraciones se realizó mediante el fotomicroscopio Nikon Eclipse 80i, con cámara fotográfica DXM 1200F y programa de captura de imágenes ACT-1.

En primer lugar se describieron las características histológicas de acuerdo al sistema utilizado en medicina humana propuesto por McLachland y col. en 2007 (tabla 6). Las características valoradas fueron las siguientes: 1) homogeneidad/heterogeneidad del parénquima testicular, 2) el diámetro de los túbulos seminíferos 3) presencia/ausencia de fibrosis peri-tubular y lumen, 4) tipos de células germinales presentes así como su valoración de la disminución o ausencia de éstas 5) etapa de cese de la espermatogénesis, 6) número de células de Sertoli presentes, así como sus características o si éstas son las únicas células presentes en el epitelio seminífero, 7) presencia de hialinización de los túbulos seminíferos (término usado cuando en el tejido examinado los túbulos carecen de células germinales y de Sertoli, evidenciando además una marcada fibrosis y el acúmulo de una sustancia hialina amorfa similar a la membrana basal del túbulo, 8) evaluación del tejido intertubular, haciendo hincapié en las células de Leydig y sus características con presencia/ausencia de formación de micronódulos, y 9) presencia/ausencia de algún tipo de célula inflamatoria y su distribución que puede oscilar desde focal a difusa y otras alteraciones como microlitiasis, túbulos disgenésicos, signos de degeneración, necrosis etc.

Homogeneidad/heterogeneidad del parénquima testicular
Diámetro de los túbulos seminíferos (micrómetros)
Presencia/ausencia de luz tubular y fibrosis peritubular
Tipos de células germinales presentes así como su valoración de la disminución o ausencia de éstas
Cese de la espermatogénesis y estadio
Presencia y características de las células de Sertoli (normal, disminuidas, ausentes, morfología alterada)

Hialinización de los túbulos seminíferos
Células de Leydig (normal, agregadas en micronódulos, aplasia)
Otras alteraciones como presencia/ausencia de algún tipo de células inflamatorias, microlitiasis, túbulos disgenésicos, etc.

**Tabla 6: Características histológicas evaluadas.**

En segundo lugar se realizó una evaluación histológica cuantitativa. Los resultados se compararon con los testículos una población control compuesta por 4 caballos de edades comprendidas entre los 4 y 6 años, sin historia de problemas relacionados con el aparato reproductor, y castrados con la misma técnica empleada en los caballos del experimento. Las muestras se evaluaron de acuerdo a la escala modificada de Johnsen (Johnsen 1970, de Krester and Holstein 1976) (Figura 17). Para ello se valoraron 100 túbulos seminíferos de cada muestra de tejido testicular.

<i>Score</i>	<i>Histological criteria</i>
10	Full spermatogenesis
9	Many late spermatids, disorganized epithelium
8	Few late spermatids
7	No late spermatids, many early spermatids
6	No late spermatids, few early spermatids
5	No spermatids, many spermatocytes
4	No spermatids, few spermatocytes
3	Spermatogonia only
2	No germinal cells, Sertoli cells only
1	No seminiferous epithelium

**Figura. 17: Escala de Johnsen modificada por de Krester y Holstein (Fuente: de Krester y Holstein).**

Para obtener la puntuación media de dicha muestra/testículo, el número de túbulos de una determinada puntuación se multiplicó por ésta. Luego se sumaron todos los valores obtenidos y se dividieron por 100.



Todo el examen anatomopatológico fue llevado a cabo por el mismo patólogo con el fin de evitar la variación inter-individual.

Las características histológicas no cuantificables fueron comparadas subjetivamente. Las medias de las características histológicas cuantificables fueron comparadas estadísticamente entre los caballos sometidos a hernioplastia y los caballos control (puntuación de acuerdo a la escala modificada de Johnsen, porcentaje de túbulos con espermatogénesis completa y diámetro tubular).

#### *6.1 Estudio estadístico de las variables histológicas cuantitativas*

Se calculó la media y la desviación estándar de los valores obtenidos en cada caballo y se agruparon según pertenecieran al grupo control o al grupo operado. Se determinó la distribución de las variables mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Las muestras fueron contrastadas por pares mediante la prueba t para muestras independientes cuando las variables presentaron una distribución normal. Cuando las variables no siguieron una distribución normal se compararon aplicando la prueba U de Mann Whitney. El nivel de significación se estableció por debajo de 0,05. Todos estos datos fueron estudiados con el programa informático SPSS 19 (IBM, Chicago IL).

## *Resultados*

## Resultados

### *1. Complicaciones intra y postoperatorias. Seguimiento durante el periodo de estudio*

No hubo complicaciones destacables durante la cirugía o tras ésta. Durante el periodo de estudio no aparecieron patologías relacionadas o no con el aparato reproductor.

No se detectaron modificaciones del tamaño y consistencia del escroto, testículos y cordón espermático durante el estudio, con la excepción del caballo número 5. En este caballo se pudo apreciar a los 12 meses un incremento de la consistencia del parénquima testicular.

### *2. Laparoscopia de control a los tres meses*

Las laparoscopias de control tres meses después de la hernioplastia no mostraron ninguna alteración destacable. Los anillos inguinales estaban correctamente obliterados y el defecto peritoneal de la pared abdominal estaba correctamente epitelizado. No se apreció fibrosis o excesiva compresión del colgajo peritoneal sobre el cordón espermático



**Cierre perfecto del anillo inguinal en el caballo nº 3, tres meses después de la hernioplastia**

### 3. Resultados del análisis del semen

En esta parte del estudio se excluyó el caballo n° 5 ya que el examen ecográfico del flujo sanguíneo mostró diferencias significativas con el resto de caballos (los detalles se muestran en la siguiente sección).

La hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal no produjo variaciones significativas en ninguna de las variables estudiadas a lo largo de un año (DSO, MOT, PMOT, VCL, VSL y VAP) (tabla 7).

Parámetro \ Tiempo	T0	T3	T6	T12
DSO (espermatozoides×10 <sup>6</sup> )	3560±1070	4788±3504	4323±2224	3798±1542
MOT (%)	64.42±23.32	68.22±15.55	64.92±17.55	67.95±13.90
PMOT (%)	44.37±17.32	50.78±11.80	44.38±16.40	52.53±16.26
VSL (µm/s)	41.66±8.6	46.76±7.95	47.50±13.00	51.63±12.86
VCL (µm/s)	83.17±14.39	90.80±13.99	90.45±17.72	97.60±17.11
VAP (µm/s)	56.83±12.86	63.54±10.65	65.25±17.23	68.06±13.73

**Tabla 7: Valores medios y desviación estándar del análisis seminal a lo largo del estudio. No hay diferencias significativas (el caballo número 5 no está incluido).**

### 4. Resultados del estudio del flujo testicular

En esta parte del estudio se incluyeron todos los caballos menos el número 5. En el caballo número 5 se detectó varicocele e hidrocele a los 12 meses, además de diferencias significativas en T0 de todos los parámetros estudiados respecto al resto de caballos (Figura 26).

La PSV aumentó significativamente en la porción tortuosa de la arteria testicular de todos los caballos en cada medición tras la cirugía (T3, T6, T12). La EDV aumentó

significativamente en T3 y T6 respecto a T0, aunque entre T0 y T12 no hubo diferencias significativas. LA TAMV aumentó de forma significativa en cada medición tras la cirugía (tabla 8).

Porción tortuosa	IP	IR	PSV (cm/s)	EDV (cm/s)	TAMV (cm/s)
T0	2.13±0.14	0.77±0.01	26.03 <sup>a</sup> ±0.85	5.72 <sup>a</sup> ±0.29	10.47±0.40
T3	2.38±0.15	0.76±0.01	29.15 <sup>b</sup> ±0.91	6.97 <sup>b</sup> ±0.31	11.68 <sup>b</sup> ±0.43
T6	2.44±0.15	0.78±0.01	30.66 <sup>b</sup> ±0.92	6.54 <sup>b</sup> ±0.31	11.64 <sup>b</sup> ±0.43
T12	2.06±0.14	0.77±0.01	29.11 <sup>b</sup> ±0.84	6.25±0.29	11.30 <sup>b</sup> ±0.40

**Tabla 8: Los superíndices “a” y “b” indican valores con diferencias significativas. Medias y desviaciones estándar medidas en la porción tortuosa de la arteria testicular.**

La PSV, EDV y TAMV aumentaron significativamente en la porción marginal de la arteria testicular en T12 respecto a T0 (tabla 9).

El IR disminuyó de manera progresiva en la porción marginal de la arteria testicular en T12 respecto a T0 de manera significativa. La IP disminuyó de forma significativa en T12 respecto a T0 (tabla 9).

Porción marginal	IP	IR	PSV (cm/s)	EDV (cm/s)	TAMV (cm/s)
T0	1.20 <sup>a</sup> ±0.05	0.65 <sup>a</sup> ±0.08	16.38 <sup>a</sup> ±0.66	5.45 <sup>a</sup> ±0.28	8.69 <sup>a</sup> ±0.37
T3	1.23±0.05	0.64±0.09	19.13 <sup>b</sup> ±0.65	6.88 <sup>b</sup> ±0.28	10.59 <sup>b</sup> ±0.37
T6	1.17±0.05	0.63±0.07	17.18±0.68	6.24 <sup>b</sup> ±0.29	9.49±0.38
T12	1.11 <sup>b</sup> ±0.05	0.61 <sup>b</sup> ±0.08	18.84 <sup>b</sup> ±0.68	6.77 <sup>b</sup> ±0.29	10.40 <sup>b</sup> ±0.39

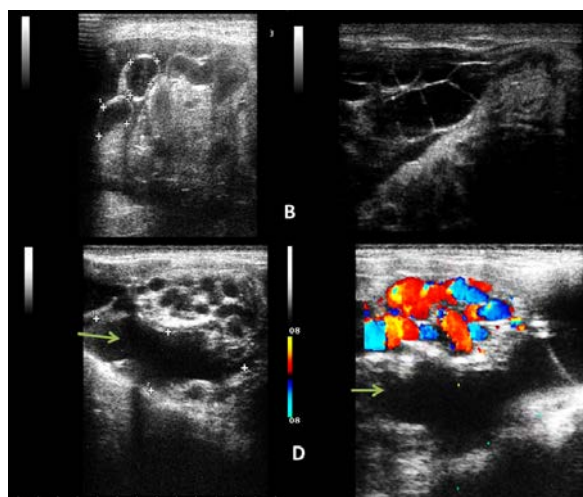
**Tabla 9: Los superíndices “a” y “b” indican valores con diferencias significativas. Medias y desviaciones estándar medidas en la porción marginal de la arteria testicular.**

El caballo n° 5 mostró valores de la PSV, IR e IP en T0 mayores que el resto de sementales. Además, todos los parámetros estudiados (PSV, EDV, TAMV, IR e IP)

aumentaron significativamente en la porción marginal de la arteria testicular en T12 respecto a T0 (tabla 10).

	IP		IR		PSV (cm/s)		EDV (cm/s)		TAMV (cm/s)	
	Otros	Nº5	Otros	Nº5	Otros	Nº5	Otros	Nº5	Otros	Nº5
T0	1.26	1.78 <sup>a</sup>	0.67 <sup>a</sup>	0.77 <sup>a</sup>	16.38 <sup>a</sup>	20.02 <sup>a</sup>	5.45 <sup>a</sup>	4.6 <sup>a</sup>	8.69 <sup>a</sup>	8.6 <sup>a</sup>
T12	1.16	1.95 <sup>b</sup>	0.64 <sup>b</sup>	0.81 <sup>b</sup>	18.84 <sup>b</sup>	35.55 <sup>b</sup>	6.77 <sup>b</sup>	6.72 <sup>b</sup>	10.40 <sup>b</sup>	14.87 <sup>b</sup>

**Tabla 10:** Los superíndices “a” y “b” indican valores con diferencias significativas. Medias y desviaciones estándar medidas en la porción marginal de la arteria testicular.



**Figura 26:** Presencia de varicocele (imágenes superiores, distensión de las venas del plexo pampiniforme) e hidrocele (imágenes inferiores) en el caballo nº 5.

### *5. Resultados del estudio anatomopatológico*

En esta parte del estudio se incluyeron las muestras de los caballos operados (nº 1, 2, 3, 4 y 6) y las de un grupo control (10 y 7 testículos respectivamente).

Destacar en primer lugar que los especímenes de los diferentes tejidos analizados (testículo, red pampiniforme y epidídimo) mostraron un aspecto homogéneo, no encontrándose diferencias significativas entre los caballos del grupo operado y los incluidos en el grupo control. En ninguno de los testículos de los caballos tratados quirúrgicamente se observó fibrosis peritubular ni hialinización de los túbulos seminíferos (Figuras 27 y 28).

La modificación más generalizada a nivel testicular correspondió a las alteraciones vasculares apreciadas en todas las muestras del grupo operado (10/10), siendo estas alteraciones moderados fenómenos de congestión vascular y edema intersticial. Estos cambios también se describieron en los dos testículos de un animal incluido en el grupo control.

Aunque la imagen de la mayoría de las células intersticiales (células de Leydig) pertenecientes a los testículos de los animales del grupo operado fue similar a la apreciada en los testículos de los caballos del grupo control, siendo esta imagen compatible con la normalidad (Figura 28), destaca la presencia de ocasionales micronódulos en tres muestras de testículo de animales del grupo control y la tendencia a la vacuolización del citoplasma de estas células en uno de ellos. Estas variaciones también se identificaron en las muestras pertenecientes a animales del grupo operado. Concretamente, los micronódulos se apreciaron en secciones de testículo de tres

animales, mientras que la vacuolización de las células intersticiales fue ligeramente superior, afectando a los testículos de cuatro individuos (Figura 29).

La media y la desviación estándar del diámetro de los túbulos seminíferos fue de  $230 \pm 34 \mu\text{m}$  para el grupo control y de  $186 \pm 10 \mu\text{m}$  para el grupo de caballos operados. Esta diferencia fue significativa ( $p=0.002$ ). La espermatogénesis sólo cesó en un testículo perteneciente a un animal del grupo operado, siendo el porcentaje de túbulos seminíferos en los que se observó espermatogénesis completa de  $24.85 \pm 14.31$  para el grupo control y de  $14.1 \pm 9.68$  para el grupo operado, no existiendo diferencias significativas entre dichos porcentajes ( $p=0.083$ ).

En lo referente a las células de Sertoli, al comparar las muestras pertenecientes a ambos grupos, no se detectaron variaciones destacables ni a nivel numérico ni a nivel de sus características morfológicas.

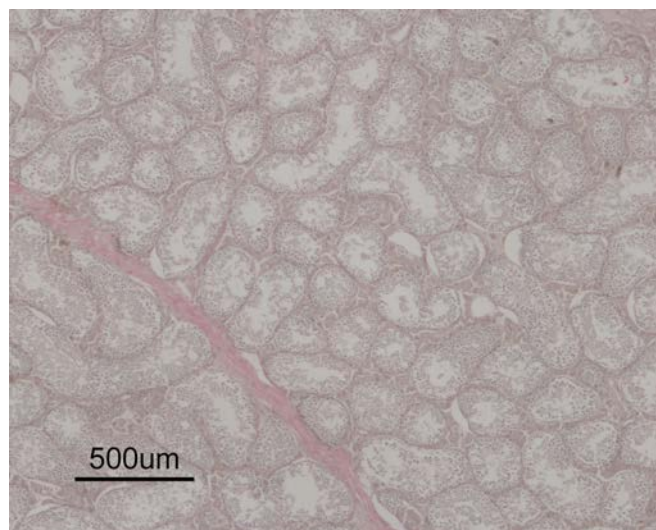
Otros cambios no relevantes identificados en las secciones de testículo de caballos del grupo operado fueron la aparición de ocasionales áreas de hemorragia (Figura 30), las cuales se visualizaron en dos testículos de dos animales diferentes, y un foco puntual de inflamación crónica apreciado en un único testículo. Este mismo órgano mostró rotura de algunos túbulos seminíferos con pérdida de células germinales hacia el estroma. En tan solo un animal perteneciente al grupo control se distinguen ocasionales focos de necrosis de túbulos seminíferos en ambos testículos.



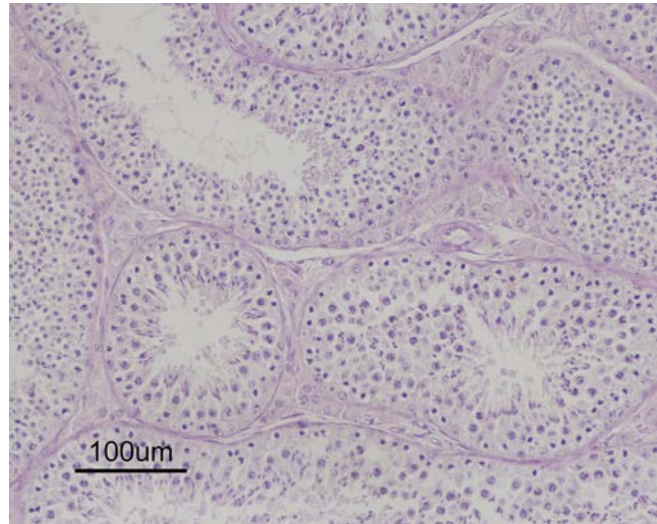
En cuanto a la puntuación media y a la desviación estándar de los testículos valorados según la escala modificada de Johnsen, ésta fue de  $7.22 \pm 0.17$  para el grupo control y de  $7.13 \pm 0.19$  para el grupo operado. La diferencia no fue significativa ( $p=0.31$ ).

Al valorar la red pampiniforme de los animales del grupo control, solo en los dos testículos pertenecientes a un animal de dicho grupo se evidencia cierto grado de congestión vascular y edema intersticial. Esta alteración vascular se hace más patente y generalizada en dicha estructura en los caballos del grupo operado. Destacar la presencia en uno de estos animales de varios focos de perivasculitis linfocitaria en la red pampiniforme de ambos testículos (Figura 31).

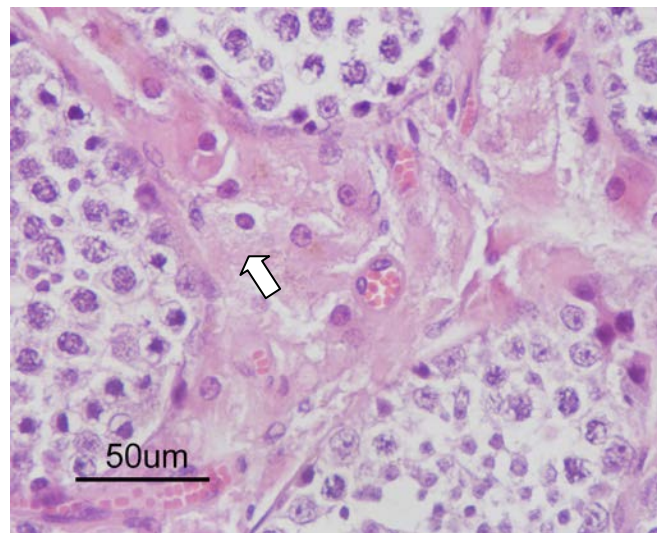
La normalidad en el aspecto del epidídimo de los animales del grupo control es la imagen más habitual, salvo en uno de los caballos incluidos en dicho grupo en el que se distingue nuevamente un proceso de congestión y edema. Congestión y edema que también se han descrito en los testículos y en ambas redes pampiniformes de este mismo animal. Estos cambios vasculares se identificaron en ocho de las diez muestras pertenecientes a los animales del grupo operado (Figura 32)



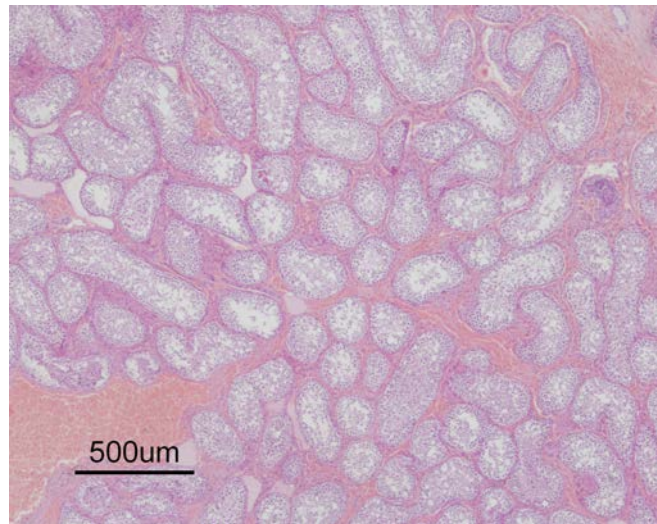
**Figura 27: Ausencia de fibrosis del parénquima testicular. Tinción Van Gieson.**



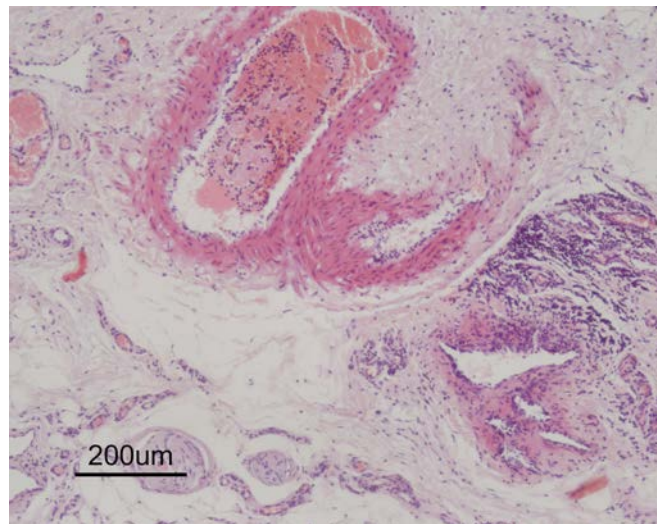
**Figura 28:** Carencia de hialinización de los túbulos seminíferos. Dichas estructuras así como las células intersticiales (células de Leydig) muestran una clara imagen de normalidad. Tinción Ácido Peryódico de Schiff (PAS).



1. **Figura 29:** Cierta congestión vascular acompañada con degeneración vacuolar de células intersticiales en uno de los caballos operados (células de Leydig) (flecha). Tinción Hematoxilina-Eosina.

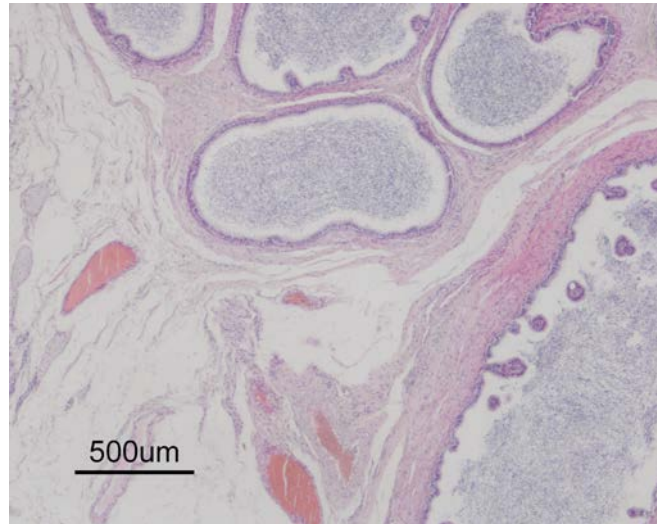


**Figura 30: Presencia de varias áreas hemorrágicas moderadamente extensas. Tinción Hematoxilina-Eosina**



**Figura 31: Foco de inflamación perivascular en red pampiniforme. Los linfocitos constituyen el componente celular principal de dicho foco de inflamación.**

**Tinción Hematoxilina-Eosina.**



2. **Figura 32: Sección de epidídimo en el que se aprecia congestión vascular y edema intersticial. Las luces del conducto evidencian una destacada concentración de espermatozoides. Tinción Hematoxilina-Eosina.**

## *Discusión*

## **Discusión**

Con la excepción de los dos caballos que pudieron sufrir atrofia testicular, ninguna de las técnicas laparoscópicas de hernioplastia publicadas hasta la fecha describe la aparición de efectos adversos relacionados con la reproducción. En otras especies animales y en el hombre, sí que están descritos tras la realización de hernioplastia mediante diferentes técnicas. En general, los efectos negativos suelen ser más acentuados cuando se usan mallas protésicas, aunque también se puede producir obstrucción del conducto deferente y disminución del flujo sanguíneo testicular cuando no se emplean (Fitzgibbons et al. 1994, Uzzo et al. 1999, Peiper et al 2005, Peiper et al. 2006).

La hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal es una de las técnicas más recientemente desarrolladas en équidos que evita la aparición y/o recurrencia de la hernia inguinal y preservan los testículos. Sin embargo, como se ha mencionado en el párrafo anterior, se han descrito dos casos de sementales que fueron sometidos a esta técnica y en los que se observaron atrofia testicular bilateral de acuerdo a sus propietarios. Los autores de ésta técnica no pudieron examinar dichos caballos para confirmar dicho hallazgo (Wilderjans et al. 2012). A pesar de esto, si se acepta el hecho de que los caballos sufrieron atrofia testicular, sería difícil determinar la causa o conjunto específico de causas. Todos los caballos incluidos en el estudio de Wilderjans y col. fueron operados porque habían padecido hernia inguinal, por lo que la propia hernia, la duración de ésta hasta su reducción, el tratamiento y la recurrencia en algunos casos pudieron haber contribuido a la aparición de la atrofia testicular (Peiper et al. 2005, Metcalf 2012, Schumacher 2012). Por lo tanto, con el fin de determinar si la técnica puede ser empleada de manera preventiva sin efectos adversos se utilizaron sementales sanos y sin historia previa de hernia inguinal en el presente estudio.

En el hombre la incidencia de infertilidad derivada de la hernioplastia, y en concreto tras producirse atrofia testicular, es baja (0.6-1%) y no hay diferencias significativas entre las distintas técnicas y abordajes (Schmedt et al. 2005, Shin et al. 2005, Simons et al. 2009, Hallén et al. 2012). Las causas más comunes por las que se produce atrofia testicular son una disección masiva del saco herniario, daño sobre el cordón espermático durante la cirugía, sección accidental de la arteria cremastérica, compresión excesiva sobre el cordón espermático y una obliteración excesiva del anillo inguinal (Wantz 1986, Reid y Devlin 1994, Shin et al. 2005, Simons et al. 2009). La obstrucción del conducto deferente tras la hernioplastia también puede causar infertilidad (oligospermia/azoospermia), con una prevalencia que oscila entre el 0.3 y el 7.2%. Las causas más comunes son el daño iatrogénico durante la cirugía, el compromiso vascular y la compresión sobre el conducto deferente (Sheynkin et al. 1998, Di Vita et al. 2000, Shin et al. 2005). En cualquier caso, todas estas complicaciones no están relacionadas específicamente con la técnica o abordaje elegido, sino con la mera manipulación quirúrgica.

Basándose en la información ofrecida por Wilderjans y col. (atrofia testicular), en los estudios en otras especies animales y en el hombre se puede especular sobre los posibles mecanismos fisiopatológicos que podrían afectar la funcionalidad reproductiva en caballos sometidos a hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal. El daño sobre el cordón espermático, incluyendo el conducto deferente, durante la cirugía no es probable. A diferencia con el hombre, los caballos adultos padecen hernias inguinales indirectas, por lo que no es necesario realizar disección alguna del saco herniario (que es la propia túnica vaginal) o del anillo herniario (que es el anillo inguinal). Además el colgajo de peritoneo se disecciona del tercio cráneo-lateral del anillo inguinal por lo que existe una separación clara entre esta zona y el cordón

espermático (Figura 21). Otro mecanismo que podría ser considerado es la compresión producida por el colgajo peritoneal sobre el cordón espermático, que hipotéticamente podría producir una disminución del flujo sanguíneo arterial o del retorno venoso. La reducción del flujo arterial produce atrofia testicular y disminución de la DSO (Love et al. 1991, Kay et al. 1992, Pinggera et al. 2008). Por otra parte, la reducción del retorno venoso se asocia con estasis venoso, hidrocele y varicocele que a su vez pueden alterar el intercambio de nutrientes y oxígeno y los mecanismos de termorregulación del testículo. La variación patológica de la temperatura de los testículos, y en especial la elevación, afectan negativamente la espermatogénesis. Cuando esta situación se prolonga en el tiempo, se puede llegar a producir degeneración testicular, reducción de la DSO, disminución de la calidad seminal y finalmente atrofia testicular (Watson et al. 1994, Blanchard et al. 2000, Turner 2007). Por último, la constricción del conducto deferente podría reducir la DSO, aunque en el hombre y otras especies animales se ha relacionado principalmente con el uso de mallas (Di Vita et al. 2000, Ridgway et al. 2002, Shin et al. 2005).

#### *1. Complicaciones intra y post operatorias de las hernioplastias y de las laparoscopias de seguimiento:*

Como se ha mencionado en la sección de resultados no hubo ninguna complicación destacable. En todos los caballos incluidos en este estudio se pudo realizar la cirugía con éxito. Al igual que en la descripción de la técnica por Wilderjans y col. durante la cirugía hubo sangrado del colgajo y en ocasiones se rompió. Sin embargo, no es un hecho excepcional que haya cierto grado de sangrado, ya que tras el peritoneo se encuentra grasa retroperitoneal en íntimo contacto y en ningún caso fue lo



suficientemente importante como para dificultar la visión del campo quirúrgico. En cuanto a la rotura del colgajo, ésta no tuvo ninguna consecuencia en el resultado final ya que en todos los casos el anillo apareció perfectamente cerrado en la laparoscopia de control a pesar de que el colgajo se rompiera durante la disección. Quizá el hecho de que se trate de un colgajo pediculado y de recibir cierta vascularización propició el que los desgarros causados durante la disección se repararan.

El mayor contratiempo durante la cirugía fue debido al carácter de los caballos. Algunos de los caballos usados no tenían mucho manejo lo que dificultó y alargó algunas de las cirugías. Tanto en éste como en otros procedimientos quirúrgicos en la estación es esencial la cooperación del paciente, ya que la sedación y la anestesia local pueden no ser suficiente. Por lo tanto se debe seleccionar cuidadosamente el tipo de pacientes que se pueden operar mediante técnicas en la estación.

## *2. Estudio del análisis del semen*

La hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal no afectó a la calidad del semen un año después de la cirugía (evaluada a partir de la determinación de la DSO, MOT, PMOT, VSL, VCL and VAP).

Para este estudio se eligieron la DSO y las características cinemáticas de los espermatozoides porque son los principales parámetros del espermograma. En estudios previos se ha demostrado que dichos parámetros están relacionados con la calidad seminal e incluso de manera indirecta con la fertilidad (Jasko et al. 1992, De Geyter et al. 1998, Sieme 2009, Baumber-Skaife 2011).

Otra razón para estudiar la DSO es que está directamente relacionada con la masa de parénquima testicular funcional (Love et al. 1991). Sin embargo, conviene recordar que la DSO varía de forma fisiológica con factores tales como la edad, la estación del año, la frecuencia de eyaculación, la temperatura ambiente y la dieta entre otros (Squires y Pickett 2011). El diseño de este estudio tuvo en cuenta dichos factores y se planeó con el fin de reconocerlos y evitar su influencia en la medida de lo posible. La edad de los caballos incluidos varió entre los 4 y los 12 años, aunque en este rango de edad la DSO suele permanecer bastante estable (Amann et al. 1979, Johnson y Neves 1981, Johnson y Thompson 1983, Johnson et al. 1991). La estacionalidad tiene una gran influencia en la DSO. Como se puede observar en los resultados la DSO aumentó, aunque no de forma significativa, en T3 y T6 en comparación con T0 y T12. Este incremento era esperado ya que T3 y T6 correspondieron con la temporada de reproducción. Por este motivo, el seguimiento durante un año eliminó el efecto estacional (Pickett et al. 1976, Love et al. 1991, Rodríguez Martínez 1992, Johnson et al. 2008). Finalmente, los caballos empleados en el estudio permanecieron todo el tiempo en nuestras instalaciones por lo que los factores ambientales, dietéticos y de manejo fueron similares para todos ellos.

El caballo número 5, que había sufrido una hernia inguinal crónica antes del estudio, se incluyó inicialmente en este estudio, ya que el lado afectado había sido castrado y el anillo inguinal cerrado. De acuerdo a la historia clínica, al examen físico y laparoscópico, y los datos del espermiograma previos al estudio, se trataba de un animal sano desde el punto de vista reproductivo. Sin embargo, conforme el estudio progresó y se empezaron a obtener y comparar los datos del flujo sanguíneo testicular, se constató que ya existían diferencias de perfusión testicular con el resto de los caballos desde

antes de la cirugía. Además, en el examen físico a los 12 meses tras la cirugía se detectó un aumento de la consistencia en el testículo.

### *3. Estudio del flujo sanguíneo testicular:*

En general no existen muchos estudios en equinos en los que se haya usado la ecografía Doppler pulsada como método diagnóstico en problemas de infertilidad (Pozor y McDonnell 2004, Boyd 2006, Pozor 2007, Pozor et al. 2011). De hecho ésta es la primera vez que se emplea esta técnica para detectar alteraciones del flujo sanguíneo testicular relacionadas con una técnica quirúrgica como la hernioplastia inguinal (en concreto con la hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal).

Como se ha comentado con anterioridad en la revisión bibliográfica, el flujo sanguíneo testicular puede estar influenciado por ciertos factores fisiológicos. En el hombre, los individuos adultos presentan valores del IR en la arteria testicular menores (0.5-0.7) que en individuos pre-puberales (0.87), lo que indica una mayor vascularización del testículo en adultos (Middleton et al. 1989, Barder et al. 1997, Oyen 2002, Dudea et al. 2010). En sementales, sólo se han podido detectar cambios significativos en el flujo sanguíneo del testículo entre caballos menores y mayores de 16 años, en los que la EDV disminuyó y el IR aumentó, y que podría estar relacionado con la senectud y la consiguiente fibrosis de los tejidos (Pozor y McDonnell 2004). Por tanto, la edad de los caballos empleados en este estudio no debería haber influido a los resultados. El otro factor fisiológico descrito que podría haber tenido influencia en el presente estudio es la estacionalidad. Anteriormente se ha podido comprobar que la PSV, el flujo sanguíneo de la arteria testicular y su relación con la masa de parénquima testicular aumentan de forma significativa durante la estación reproductiva, llegándose incluso a sugerir que la

variación en el flujo sanguíneo podría ser la responsable última de los cambios de la producción espermática durante la época reproductiva (Boyd 2006, Pozor 2007). Para confirmar esta idea, se ha demostrado que un agente reológico como la pentoxifilina (que mejora la vascularización a nivel del lecho capilar) retrasa los cambios estacionales que se producen en la vascularización de testículos de caballos miniatura (Pozor et al. 2011). Una vez más, el periodo de seguimiento de un año usado en el presente estudio permitió controlar dicho efecto.

Durante este estudio se detectó un aumento significativo, tanto en la porción tortuosa como en la marginal de la PSV tras la cirugía. Un aumento de la PSV suele estar relacionada lo general con procesos patológicos agudos y de tipo inflamatorio, debido a un incremento en el flujo sanguíneo. En el hombre este parámetro se encuentra aumentado en casos de orquitis, orquitis isquémica y varicocele patológico. En caballos con varicocele también se ha encontrado una cierta tendencia hacia el incremento de la PSV (Pozor y McDonnell 2004). Sin embargo, en los caballos de este estudio no se detectaron signos clínicos relacionados con orquitis, varicocele u otras patologías del aparato reproductor durante el año posterior a la cirugía. Es más, estos sementales mostraron un ligero incremento no significativo de la producción espermática durante un año tras la cirugía. Otro factor a tener en cuenta que podría elevar la PSV es cierto grado de oclusión venosa y/o arterial debido al colgajo.

Tanto en la porción marginal como en la tortuosa de la arteria testicular se observó un aumento significativo de la EDV en T12, aunque dicho parámetro no es excesivamente fiable y además, hasta la fecha, no se ha encontrado una correlación específica con la fertilidad (Conchard et al. 2000, Biagiotti et al. 2002, Pinggera et al. 2008). La TAMV corresponde con la velocidad máxima en cada momento durante el ciclo cardíaco, por lo que si la PSV y la EDV están elevadas es lógico que la TAMV también lo esté en T12.

En cuanto a la medición en las distintas localizaciones anatómicas cabe destacar que las mediciones en la porción marginal de la arteria testicular son más fiables y precisas que en la porción tortuosa (Pozor y McDonnell 2004). La porción marginal es recta y más fácil de localizar, por lo que es más fácil realizar y repetir las mediciones en las mismas condiciones y obtener resultados más consistentes. El ángulo Doppler o de insonación es un factor que tiene una influencia muy importante a la hora de calcular las distintas velocidades del flujo sanguíneo ya que el valor de éstas se obtienen de una fórmula que incluye el coseno de dicho ángulo. Dicho ángulo es fácil de mantener constante en vasos relativamente rectos, como por ejemplo en la arteria carótida. Sin embargo, no ocurre lo mismo con la arteria testicular, cuya porción en el cordón espermático es extremadamente tortuosa, por lo que mantener el mismo ángulo, incluso en el mismo caballo, resulta difícil (Ghinter 2004, Pozor y McDonnell 2004). Con el fin de evitar el efecto del ángulo de insonación, se emplean los índices Doppler, que son cocientes derivados de las velocidades. Al ser cocientes de las velocidades, el ángulo desaparece de esa relación, y por tanto no influye en el valor de dicho índice. Otra ventaja adicional que presentan es que son indicadores más precisos del flujo sanguíneo arterial (Pozor y McDonnell 2004).

En este trabajo se detectó una disminución progresiva y significativa del IR e IP en la porción marginal de la arteria testicular a los 12 meses tras la cirugía con respecto a T0. En casos de obstrucción arterial aguda (Bude et al. 1995), inflamación aguda (Dudea et al. 2010), hiperemia y azoospermia no obstructiva en el hombre (Pinggera et al. 2008) se produce una disminución del IR. Pero como se ha mencionado anteriormente no se detectaron signos clínicos, ni ecográficos compatibles con la presencia de patología testicular alguna y la DSO permaneció estable.

Las hipótesis para explicar el aumento de la PSV y disminución del IR e IP en este estudio son dos. En primer lugar, el colgajo pudo crear cierta compresión sobre el cordón espermático. La compresión parcial de la arteria testicular y la disminución correspondiente del diámetro de esta pudo llevar a un incremento de la velocidad del flujo para mantener en volumen perfundido al testículo. La compresión afectó también al retorno venoso. La venas, en comparación con las arterias, tienen una pared mucho más fina y elástica por lo que el grado de oclusión sobre éstas pudo ser mayor. Dicho efecto se reflejó en un aumento en la EDV que fue de mayor extensión que la PSV. Esa mayor diferencia se vio reflejada en unos menores IP e IR. En segundo lugar, los caballos de este estudio, a pesar de ser enteros, no se habían empleado como reproductores, ni habían estado en contacto con yeguas anteriormente. Al someterlos a una recogida regular y relativamente más intensa de semen, se produjo un aumento de la demanda funcional del tejido testicular, lo que llevó a un aumento de la vascularización (Paltiel et al. 1994). Se ha observado también que cambios en la estructura social y el contacto con yeguas afecta la función testicular y por tanto a su perfusión en sementales. (Mcdonnell 2000).

El caballo nº 5 padeció antes del estudio una hernia unilateral no estrangulada y reducible del lado derecho, por lo que fue castrado de ese lado un año y medio antes de incluirse inicialmente en el presente estudio. De acuerdo con su historial, el caballo no había mostrado ninguna patología relacionada con el testículo izquierdo, al menos en los tres años anteriores. En el momento del estudio el caballo tenía 12 años. El examen ecográfico correspondiente a T0 mostró que tanto las velocidades del flujo sanguíneo como los índices Doppler estaban elevados en comparación con los otros caballos, aunque no de manera significativa. A pesar de estos hallazgos, se decidió continuar estudiando la vascularización del testículo en este caballo, aunque sus resultados no se

incluyeron con las medias del resto de los caballos. El objetivo fue obtener datos de un caballo que había padecido hernia inguinal y en el que se había tenido la oportunidad de estudiar su semen y el flujo sanguíneo testicular antes de realizar la hernioplastia, hecho improbable cuando se trata de caballos adultos con hernias inguinal agudas.

Al final del estudio (T12) los valores de las velocidades e índices Doppler estaban significativamente aumentados comparados con T0. Además, se pudo detectar la presencia de varicocele e hidrocele. Ninguno de los otros caballos mostraron esos signos clínicos, por lo que no creemos que la hernioplastia fuera la única responsable de estos hallazgos. Se puede especular con tres causas: 1) la hernia crónica del lado derecho pudo haber producido alteraciones de la termorregulación o haber expuesto el testículo izquierdo a temperaturas por encima de lo normal durante un periodo prolongado (Metcalf 2007, Schumacher 2012). La elevación de la temperatura del testículo de forma prolongada puede producir alteraciones importantes como degeneración del parénquima testicular que queda reflejada en un incremento de los valores de PSV e IR (Watson et al. 1994, Blanchard et al. 2000, Turner 2007); 2) el caballo pudo haber sufrido también hernia inguinal en el lado izquierdo en algún momento, que se resolvió de forma espontánea. La presión ejercida por las vísceras herniadas sobre el cordón espermático pudo haber dañado los vasos de dicha estructura. La hernioplastia pudo haber producido cierto grado de constricción sobre unos vasos ya dañados lo que llevó a un aumento del IR y la aparición de varicocele; y 3) una combinación de ambos. Por tanto se puede especular que, aunque en caballos sanos la hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal no afecta drásticamente al flujo sanguíneo testicular, en caballos que han sufrido hernia inguinal podría incrementarse el riesgo a padecer cierto daño vascular tras la cirugía.

Por tanto la hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal tuvo efectos en la vascularización de los sementales sanos un año tras la cirugía. Sin embargo son necesarios más estudios largo plazo para saber si dichos efectos son negativos.

#### *4. Estudio anatomopatológico:*

La hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal produjo cambios microscópicos leves en el parénquima testicular, el plexo pampiniforme y epidídimo un año más tarde, no mostrando modificaciones macroscópicas destacables.

El diámetro de los túbulos seminíferos disminuyó significativamente en los testículos de los caballos que fueron operados. El túbulo seminífero consiste en un epitelio estratificado complejo acompañado de su correspondiente membrana basal, y en torno a ésta se sitúa la lámina propia. Dicho epitelio está compuesto por células germinales y células de Sertoli. La lámina propia está formada por células mioideas, fibroblastos, laminina y otros componentes no celulares que forman la matriz extracelular. El tejido conectivo entre los túbulos incluye a las células de Leydig (Ross et al. 1995). En general, la reducción del diámetro de los túbulos seminíferos está relacionada principalmente con una disminución en el número de células germinales, ya que éstas son las células del testículo más sensibles a alteraciones tales como la hipertermia (fiebre), la oclusión de los vasos sanguíneos o la exposición a sustancias tóxicas. El envejecimiento también tiene un efecto similar (Jones 1997, Morales et al. 2004, Moffit et al. 2007). La disminución del número de células germinales y por tanto del diámetro del túbulo seminífero se manifiesta habitualmente como atrofia testicular, reducción del grado de espermatogénesis de acuerdo a la escala de Johnsen y de la producción de espermatozoides (Markey et al. 1994, Ross 1995, Jones 1997). Como se viene



mencionado a lo largo de la discusión, las hernias inguinales, su duración hasta que son reducidas, la recurrencia de éstas, la terapia aplicada o una combinación de estos factores pueden producir atrofia testicular (Peiper et al. 2006, Metcalf 2007, Schumacher 2012), por lo que para detectar los posibles efectos adversos derivados de la cirugía se emplearon animales sanos sin historia previa de hernia inguinal.

Basándose en los estudios en otras especies animales y en el hombre, en la descripción de la técnica de hernioplastia en caballos publicada por Wilderjans y col. en el año 2012 y en los resultados del presente estudio, se puede especular que la compresión causada por el colgajo peritoneal sobre el cordón espermático fue la responsable de la disminución del diámetro de los túbulos seminíferos. Teóricamente, dicha compresión pudo haber alterado el flujo sanguíneo arterial y/o el retorno venoso. Como se ha demostrado con anterioridad, la reducción del flujo arterial al testículo está asociada a una reducción de la masa testicular y por tanto del recuento de espermatozoides en el eyaculado (Love et al. 1991, Kay et al 1992, Pinggera et al 2008). Los hallazgos de nuestro estudio se pueden comparar con dos modelos experimentales de oclusión de la arteria testicular. En el primero, se ocluyó completamente la arteria testicular en un grupo de ratas. Los cambios histológicos observados fueron mucho más marcados y avanzados comparados con los vistos en nuestro estudio. A las 24 horas se pudo apreciar exfoliación de espermátidas y espermatoцитos en el lumen tubular, edema marcado del parénquima testicular y vacuolización de las células de Sertoli. A los siete días se produjo necrosis tubular. Dos semanas más tarde las células de Leydig mostraron signos de degeneración. Tras siete meses, el parénquima testicular presentó una fibrosis marcada e infiltración de leve a moderada de células plasmáticas (Jones 1997). En el segundo estudio, se mostraron los efectos de diferentes grados de oclusión arterial, de leve a completa, sobre el parénquima testicular en un grupo de carneros. Las

conclusiones más importantes fueron que la magnitud del daño sobre el parénquima testicular se relacionó con el grado de oclusión, siendo el daño fue focal y no difuso y que cuanto mayor era el daño observado en los túbulos mayor infiltración de células inflamatorias había. También se comprobó que era necesario un determinado grado de oclusión para producir daños detectables en el parénquima testicular y alterar la propia espermatogénesis (Markey et al. 1994). Por otra parte, la disminución del retorno venoso, producida por compresión proximal, puede resultar en un incremento de la presión venosa del testículo, estasis venoso, hidrocele y varicocele que pueden conducir a hipoxia del tejido testicular, una disminución del aporte de nutrientes y/o alteración de los mecanismos de termorregulación (Porter et al. 2006, Reyes et al. 2012). El incremento de la presión venosa en el testículo desencadena una serie de mecanismos, tanto fisiológicos como patológicos, cuyo fin es mantener la presión intra-testicular constante. Por un lado se produce derivación arterio-arterial y por otro reflujo de la sangre en las arterias, con lo que la sangre oxigenada no alcanza el lecho capilar (microcirculación) (Sweeney et al. 1995, Artyukhin 2007). Todo esto lleva a un estado de hipoxia-isquemia que afecta a todos los componentes celulares del testículo empezando por las células germinales (Gat et al. 2005).

Además de la reducción del diámetro tubular, se observaron fenómenos de congestión vascular y edema intersticial, tanto en el parénquima testicular, en la red pampiniforme y en el epidídimo que fueron más acentuados en los caballos operados que en los caballos del grupo control, e incluso en uno de ellos había infiltración linfocitaria, signo de cronicidad. Además de producir hipoxia y alteraciones en la termorregulación, el líquido que forma el edema puede contener ciertas proteínas, mediadores químicos o incluso radicales libres que suprimen el proceso de diferenciación de la espermatogénesis o inducen la apoptosis de las espermatogonias (Lysiak et al. 2002,

Porter et al. 2006). Otros efectos del edema testicular pueden ser debidos a los cambios en la presión oncótica e hidrostática que podrían alterar el transporte paracrino de hormonas o el intercambio de fluidos a nivel del lecho capilar, necesarios para una correcta espermatogénesis, como por ejemplo la testosterona (Naughton et al 2001, Roser et al. 2011). Finalmente el edema también altera el suministro de nutrientes y energía entre los capilares vasculares, situados en el tejido conectivo intertubular, y los túbulos seminíferos (Hsu et al. 1995). Las células germinales de los túbulos seminíferos tienen una tasa metabólica muy elevada por lo que son muy susceptibles a variaciones leves del aporte de nutrientes y oxígeno. De hecho, algunos autores han postulado que la disminución del diámetro tubular asociada al aumento de la edad se debe a un aumento de la deposición de matriz extracelular en la túnica propia del epitelio seminífero, lo que dificulta el aporte de nutrientes y produce una pérdida de células germinales (Bustos-Obregón 1976, Paniagua et al. 1987). En las muestras de los caballos del grupo control también se observó congestión vascular y edema, aunque en menor grado. Este hallazgo se podría explicar por el método de hemostasia empleado antes de seccionar el cordón espermático. El cordón espermático se seccionó en todos los casos mediante un sellador vascular electrotérmico bipolar (Ligasure Atlas™). Dicho instrumento consiste en una pinza que sella una sección de 22 mm de grosor. Tras el sellado una cuchilla corta por el medio, por lo que ni hay hemorragia (lado proximal) ni se extravasa la sangre que permanece en el testículo extirpado. Si se compara por ejemplo con el uso de emasculadores tipo Sand, Reimer o Serra, los vasos del lado del testículo quedan sin emasculador o sellar por lo que al cortar el cordón espermático se extravasa toda la sangre que permanece retenida en la porción amputada.

El último hallazgo destacable fue que el porcentaje de túbulos seminíferos con espermatozoides (espermatogénesis completa) fue menor en los caballos operados que en los caballos del grupo control.

Estos tres hallazgos podrían ratificar la hipótesis de que el colgajo peritoneal produjo una compresión significativa sobre el cordón espermático (también detectado mediante ecografía Doppler pulsada), aunque no se acompañara de signos clínicos apreciables. Ni el tamaño, ni la consistencia de los testículos cambiaron cuando se evaluaron de forma subjetiva, y los datos objetivos de la producción espermática permanecieron inalterados. Por otra parte no todas las características estudiadas mostraron diferencias entre los grupos, y si las mostraron no fueron significativas. Así, el valor de las biopsias testiculares de acuerdo a la escala de Johnsen (que evalúa la espermatogénesis) fue similar entre los caballos operados y los caballos control, y aunque el porcentaje de túbulos seminíferos con espermatogénesis completa fue menor en los caballos operados, esta diferencia no fue significativa. Otros estudios meramente descriptivos en caballos y burros sanos mostraron porcentajes similares (14.1% -hernioplastia-, 15.9% -caballos-, 9.9% -burros-) (Swierstra et al. 1974, Neves et al. 2002).

Por tanto, nuestra conclusión del estudio histológico es que hubo únicamente cierto grado de oclusión venosa, que condujo a modificaciones histológicas leves que no tuvieron un reflejo a nivel clínico en un plazo de un año. Lo que no se puede preveer es la evolución de estos hallazgos, ya que de progresar la reducción del tamaño tubular, debida a la pérdida de células germinales, es probable que se hubiera observado una reducción de la producción espermática y una disminución del tamaño de los testículos.

## ***Conclusiones***

## **Conclusiones:**

- 1) La hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal no afectó negativamente a la calidad seminal tras un año de seguimiento. En concreto, los valores de DSO, MOT, PMOT, VSL, VCL and VAP no mostraron alteraciones significativas.
- 2) La disminución de los IP e IR y el aumento de los parámetros de velocidad muestran que hubo cierta alteración del flujo sanguíneo al testículo. Dichos cambios se pudieron deber a la compresión del colgajo sobre el cordón espermático y/o al incremento de la actividad sexual de los caballos y a su contacto con yeguas como parte del proceso de extracción seminal.
- 3) La ecografía en modo Doppler pulsado o espectral es una herramienta útil para evaluar cambios en la vascularización testicular tras la realización de cirugías relacionadas con el aparato reproductor o para detectar de manera temprana alteraciones vasculares de los órganos genitales.
- 4) La hernioplastia laparoscópica mediante colgajo peritoneal produce cambios histológicos leves en el parénquima testicular (con disminución del diámetro de los tubos seminíferos, congestión y edema), en el plexo pampiniforme y en el epidídimo (congestión y edema) un año después de la cirugía. Dichos cambios podría estar relacionados con oclusión leve del retorno venoso que no tienen significado clínico, al menos tras un año de seguimiento, aunque sí podrían tenerlo en caso de que progresaran con el tiempo.
- 5) La hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal no afecta al rendimiento reproductivo de los sementales a medio plazo (un año),

aunque se deberían realizar estudios a más largo plazo para determinar completamente su inocuidad sobre éste.

## *Resumen*



## **Resumen**

*Objetivos:* Evaluar los posibles efectos reproductivos adversos de la hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal. Para ello se evaluaron la calidad seminal, la vascularización testicular y las características anatomopatológicas de los testículos de un grupo de 7 caballos sin historia previa de hernia inguinal tras un año de seguimiento.

*Diseño del estudio:* Estudio experimental prospectivo.

*Animales:* Siete sementales sin historia previa de hernia inguinal.

*Métodos:* Los sementales se sometieron a hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal. La calidad seminal y las características de la vascularización testicular se analizaron antes, a los 3, 6, y 12 meses después de la hernioplastia. Las variables del semen estudiadas fueron la producción diaria de espermatozoides (DSO), el porcentaje total de espermatozoides móviles (MOT%), la motilidad progresiva (PMOT %), la velocidad media en línea recta de los espermatozoides (VSL,  $\mu\text{m/s}$ ), velocidad curvilínea media de los espermatozoides (VCL,  $\mu\text{m/s}$ ) y la velocidad media del trayecto recorrido por los espermatozoides (VAP,  $\mu\text{m/s}$ ). En la arteria testicular se estudiaron el pico de velocidad sistólica (PSV,  $\text{cm/s}$ ), la velocidad al final de la diástole, justo anterior al inicio de una nueva sístole (EDV,  $\text{cm/s}$ ), la media de la velocidad máxima a lo largo de todo el ciclo sístole/diástole (TAMV  $\text{cm/s}$ ), el índice de resistencia (IR) y el índice de pulsatilidad (IP). Un año después de la cirugía, 5 sementales se castraron y se realizó un estudio anatomopatológico cualitativo y cuantitativo del parénquima testicular, del cordón espermático y del epidídimo que se comparó con un grupo de caballos no operados y castrados.

*Resultados:* No se encontraron diferencias significativas en la calidad del semen a lo largo de un año de seguimiento. La PSV, EDV y TAMV aumentaron y el IR e IP disminuyeron un año después de la cirugía. Un caballo operado había padecido anteriormente una hernia crónica en el lado opuesto y se había castrado. Al final del periodo de estudio este caballo mostró un aumento de todas las variables vasculares estudiadas y además presentó hidrocele y varicocele. Los caballos en los que se practicó hernioplastia mostraron un año después cambios histológicos leves en el parénquima testicular (reducción del diámetro tubular, edema y congestión venosa), epidídimo y el plexo pampiniforme (edema y congestión venosa) comparado con un grupo control.

*Conclusiones:* La hernioplastia laparoscópica en la estación mediante colgajo peritoneal no afectó negativamente a la calidad seminal durante un año. El incremento de la PSV, EDV y TAMV y la disminución del IR e IP se pudieron deber a la compresión del colgajo sobre el cordón espermático o a un incremento de la actividad sexual en los caballos de este estudio. Los cambios histológicos fueron leves y no estuvieron acompañados de signos clínicos, aunque no se puede determinar qué hubiera pasado si se hubiera hecho un seguimiento más prolongado.

## *Summary*

## **Summary**

*Objectives:* Assessment of the possible impact of the standing laparoscopic peritoneal flap hernioplasty on the seminal quality, testicular vascularization and histopathology of 7 stallions without previous history of inguinal herniation based on 1 year follow-up.

*Study Design:* Experimental prospective study.

*Animals:* Seven stallions that lacked a history of inguinal herniation.

*Methods:* Standing laparoscopic peritoneal flap hernioplasty was performed in seven adult stallions that lacked a history of inguinal herniation. Semen quality and testicular vascularization variables were assessed before surgery and after 3, 6 and 12 months. The seminal variables included the daily sperm output (DSO), percentage of total motility (MOT), progressive motility (PMOT), mean straight-line velocity (VSL), mean curvilinear velocity (VCL) and average path velocity (VAP). The vascular variables studied included peak systolic velocity (PSV), end-diastolic velocity (EDV), the time-averaged maximum velocity (TAMV), and the derived indexes (resistive index [RI] and pulsatility index [PI]) of the testicular artery measured in two localizations, in the convoluted aspect and in the marginal aspect. At the end of the study, 5 stallions were castrated. The testicles, the spermatic cords and the epididymis underwent qualitative and quantitative histopathological examination, and the results were compared with a group of non-operated and castrated horses.

*Results:* There were no significant differences in the sperm quality variables during one year follow up. The PSV, EDV, and TAMV increased and the RI and PI decreased one year after the surgery. One horse with previous history of inguinal hernia on the contralateral side (which was castrated previously) showed increase of all the testicular vascular variables studied, hydrocele and varicocele. The horses which underwent to

standing laparoscopic peritoneal flap hernioplasty of the inguinal rings showed mild histological changes in the testicular parenchyma (reduction of the seminiferous tubuli diameter, edema and congestion), epididymis and pampiniform plexus (congestion and edema) compared with a control group after 1 year of follow-up.

*Conclusions:* Standing laparoscopic peritoneal flap hernioplasty of the inguinal rings did not affect the seminal quality during 1-year follow-up. The increase of the PSV, EDV and TAMV and the reduction of the IR and PI may be related to the compression of the flap over the spermatic cord or the increased sexual activity of the horses enrolled in the study. The histological changes were mild and did not produced clinical signs, although we are not aware if longer follow-up might have shown more advanced changes.

## ***Bibliografía***

## Referencias:

- [1] Aaslid, R., Markwalder, T-M., Normes, H. (1982) Noninvasive transcranial Doppler ultrasound recording of flow velocity in basal cerebral arteries. *Journal of Neurosurgery* 57, 769-774.
- [2] Acosta, T.J. Hayashi, K.G., Ohtani, M., Miyamoto, A. (2004) Local changes in blood flow within the pre-ovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reproduction* 125, 1-9.
- [3] Amann, R.P., Thompson, D.L. Jr., Squires, E.L., Pickett, B.W. (1979) Effects of age and frequency of ejaculation on sperm production and extragonadal sperm reserves in stallions. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement* 27, 1-6.
- [4] Appelbaum, L., Gaitini, D., Dogra, V. (2013) Scrotal ultrasound in adults. *Seminars in ultrasound, CT, and MR* 34, 257-273.
- [5] Arques, S., Roux, E., Luccioni, R. (2007) Current clinical application of spectral Doppler echocardiography (E/E' ratio) as a noninvasive surrogate for left ventricular diastolic pressures in the diagnosis of heart failure with preserved ventricular systolic function. *Cardiovascular Ultrasound* 26, 5-16.
- [6] Artyukhin, A.A. (2007) Experimental anatomic modeling of venous dyshemocirculation in the scrotal organs. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 143, 762-766
- [7] Bader, T.R., Kammerhuber, F., Herneth A.M. (1997) Testicular blood flow in boys as assessed at color Doppler and power Doppler sonography. *Radiology* 202, 559-564.

- [8] Ball, B.A. (2008) Diagnostic methods for evaluation of stallion subfertility: A review. *Journal of Equine Veterinary Science* 28, 650-665.
- [9] Baumber-Skife, J. (2011) Evaluation of semen. In: *Equine Reproduction* 2<sup>nd</sup> edition. McKinnon, A.O., Squires, E.L., Vaala, W.E., Varner, D.D. editors. Chichester: Wiley-Blackwell. pp. 1278-1291.
- [10] Beard, W. (2009) Inguinal hernia. In: *Current Therapy in Equine Medicine* 6<sup>th</sup> edition. Robinson, N.E., Sprayberry, K.A. editors. St Louis: Elsevier Saunders. pp 756-759.
- [11] Beard, W. (2011) Abnormalities of the testes. In: *Equine Reproduction* 2<sup>nd</sup> edition. McKinnon, A.O., Squires, E.L., Vaala, W.E., Varner, D.D. editors. Chichester: Wiley-Blackwell. pp 1160-1165.
- [12] Bergmann, M., Kliesch, S. (1998) Hodenbiopsie. In: *Andrologie*. Krause, W., Weidner, W., editors. Stuttgart: Enke Verlag. pp 66-71.
- [13] Biagiotti, G., Cavallini, G., Modenini, F., Vitali, G., Gianaroli, L. (2002) Spermatogenesis and spectral echo-color Doppler traces from the main testicular artery. *BJU international* 90, 903-908.
- [14] Blanchard, T.L. (2011) Clinical uses of testicular biopsy. In: *Equine Reproduction* 2<sup>nd</sup> edition. McKinnon, A.O., Squires, E.L., Vaala, W.E., Varner, D.D. editors. Chichester: Wiley-Blackwell. pp. 1517-1522.
- [15] Blanchard, T., Varner, D., Johnson, L., Roser, J., Hill, J., Miller, C. (2000) Testicular and hormonal changes in stallions with thermally induced testicular degeneration. *Journal of Reproduction and Fertility*. Supplement 56, 51-59.



- [16] Bollwein, H., Schulze, J.J., Miyamoto, A., Sieme, H. (2008) Testicular blood flow and plasma concentrations of testosterone and total estrogen in the stallion after administration of human chorionic gonadotropine. *Journal of Reproduction and Development* 54, 335-339.
- [17] Bollwein, H., Weber, F., Kolberg, B., Stolla, R. (2002) Uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares. *Theriology* 57, 2129-2138.
- [18] Boyd, A., Pozor, M., Bailey, C.S., Verstegen, J. (2006) Effect of the seasonality on testicular blood flow in mature stallions. *Animal Reproduction Science* 94, 144-145.
- [19] Breukink, H.J., Németh, F., van Dieten, J.S. (1980) Hernia scrotalis incarcerate bij een ruis. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 105,242-247.
- [20] Bude, R.O., Kennelly, M.J., Adlers, R.S., Rubin, J.M. (1995) Nonpulsatile arterial waveforms: observation during graded testicular torsion in rats. *Academic Radiology* 2, 879-882.
- [21] Bulus, H., Dogan, M., Tas, E., Agladioglu, K., Coskun, A. (2013) The effects of Lichtenstein tension-free mesh hernia repair on testicular arterial perfusion and sexual functions. *Wiener Klinische Wochenschrift* 125, 96-99.
- [22] Bustos-Obregón, E. (1976) Ultrastructure and function of the lamina propia of mammalian seminiferous tubules. *Andrologia* 8, 179-185.
- [23] Caron, J.P., Brakenhoff, J. (2008) Intracorporeal suture closure of the internal inguinal and vaginal rings in foals and horses. *Veterinary Surgery* 37, 126-131.

- [24] Celebi, S., Yildiz, A., Üçgül, A., Karadağ Ç.A., Sever, N., Akin, M., Dokucu, A.I. (2012) Do open repair and different laparoscopic techniques in pediatric inguinal repairs affect the vascularization of the testes? *Journal of Pediatric Surgery* 47, 1706-1710.
- [25] Coburn, M., Kim, E.D., Wheeler T.M. (1993) Testicular biopsy in the male infertility evaluation. In: *Infertility in the Male*. Lipschultz, L.I., Horwards, S.S. editors. New York: Churchill. pp 219-248.
- [26] Conchard, T., Toal, R., Saxton, A.M. (2000) Doppler ultrasonography features of the thoracic limb arteries in clinically normal horses. *American Journal of Veterinary Research* 61, 183-190.
- [27] Cousty, M., Tricaud, C., Picadent, V., Geffroy, O. (2010) Inguinal rupture with herniation of the urinary bladder through the scrotal fascia in a Shetland pony foal. *Equine Veterinary Education* 22, 3-6.
- [28] Creasy, D. (1997) Review article: Evaluation of testicular toxicity in safety evaluation studies: the appropriate use of spermatogenic staging. *Toxicologic Pathology* 25, 119-131.
- [29] De Geyter, C., De Geyter, M., Koppers, B., Nieschlg, E. (1998) Diagnostic accuracy of computer-assisted sperm motion analysis. *Human Reproduction* 13, 2512-2520.
- [30] Delvento, V.R., Amann, R.P., Trotter, G.W., Veeramachaneni, D.N., Squires, E.L. (1992) Ultrasonographic and quantitative histologic assessment of sequelae to testicular biopsy in stallions. *American Journal of Veterinary Research* 53, 2094-2101.
- [31] Dudea, S.M., Ciurea, A., Chiorean, A., Botar-Jid, C. (2010) Doppler applications in testicular and scrotal disease. *Medical Ultrasonography* 12, 43-51.

- [32] Duque, F.J. Domínguez-Roldán, J.M., Ruiz, P., Zaragoza, C., Barrera-Chacón, R. (2009) Assessing Circle of Willis blood circulation in dogs with transcranial color-coded duplex sonography. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 50, 530-535.
- [33] Estrada, A.J., Samper, J.C. (2007) Semen collection and evaluation. In: *Current Therapy in Equine Reproduction*. Samper, J.C., Pycock, J.C., McKinnon, O.A., editors. St Louis: Elsevier Saunders. pp. 253-257.
- [34] Freeman, D.E. (2012) Small intestine. In: *Equine Surgery*, 4<sup>th</sup> edition. Auer, J.A., Stick, J.A., editors. St Louis: Elsevier Saunders. pp. 416-453.
- [35] Fisher, A.T. JR. (2002) Laparoscopic inguinal herniorrhaphy. In *Equine diagnostic and surgical laparoscopy*. Fisher, A.T. JR. editor. Philadelphia: W.B. Saunders Company. pp 171-176.
- [36] Fisher, A.T., Vachon, A.M., Klein, S.R. (1995) Laparoscopic inguinal herniorrhaphy in two stallions. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 207, 1599-1601.
- [37] Fitzgibbons, R.J., Salerno, G.M., Filipi, C.J., Hunter, W.J., Watson, P. (1994) A laparoscopic intraperitoneal onlay mesh technique for the repair of indirect inguinal hernia. *Annals of Surgery* 219, 144-156.
- [38] Fong, Y., Wantz, G.E. (1992) Prevention of ischemic orchitis during inguinal hernioplasty. *Surgery Gynecology & Obstetrics* 174, 399-402.
- [39] Friedewald, S.M., Molmenti, E.P., Friedewald, J.J., DeJong, M.R., Hamper, U.M. (2005) Vascular and nonvascular complications of renal transplants: Sonographic evaluation and correlation with other imaging modalities, surgery, and pathology. *Journal of Clinical Ultrasound* 33, 127-139.

- [40] Gat, Y., Zukerman, Z., Chakraborty, J., Gornish, M. (2005) Varicocele, hypoxia and male infertility. Fluid mechanism analysis of the impaired testicular venous drainage system. *Human Reproduction* 20, 2614-2619.
- [41] Ginther, O.J. (2007) *Ultrasonic imaging and animal reproduction: Color Doppler ultrasonography*. Gross Plain: Equiservices Pub.
- [42] Ginther, O.J. (2014) How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. *Theriogenology* 81, 112-125.
- [43] Ginther, O.J., Utt, M.D. (2004) Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential. *Journal of Equine Veterinary Science* 24, 516-526.
- [44] Goetz, T.E., Boulton, C.H., Coffman, J.R. (1981) Inguinal and scrotal hernias in colts and stallions. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 3, S272-276.
- [45] Hallén, M., Westerdahl, J., Nordin, P., Gunnarsson, U., Sandblom, G. (2012) Mesh hernia repair and male infertility: a retrospective study. *Surgery* 151, 94-98.
- [46] Horstman, W.G., Middleton, W.D., Melson, G.L., Siegel, B.A. (1991) Color Doppler US of the scrotum. *Radiographics* 11, 941-957.
- [47] Hsu, H.S. Wei, Y.H., Li, A.F., Chen, M.T., Chang, L.S. (1995) Defective mitochondrial oxidative phosphorylation in varicocele-bearing testicles. *Urology* 46, 545-549.
- [48] Jasko, D.J., Little, T.V., Lein, D.H., Foote, R.H. (1992) Comparison of spermatozoal movement and semen characteristics with fertility in stallions: 64 cases (1987-1988). *Journal of American Veterinary Medical Association* 200, 979-985.

- [49] Jee, W.H., Choe, B.Y., Byun J.Y., Shinn, K.S., Hwang, T.K. (1997) Resistive index of the intrascrotal artery in scrotal inflammatory disease. *Acta Radiologica* 38, 1026-1030.
- [50] Johnson, L., Neaves, W.B. (1981) Age-Related Changes in the Leydig Cell Population, Seminiferous Tubules and Sperm Production in Stallions. *Biology of Reproduction* 24, 703-712.
- [51] Johnson, K., Thompson, D.L. Jr (1983) Age-Related and Seasonal Variation in the Sertoli Cell Population, Daily Sperm Production and Serum Concentration of Follicle-Stimulation Hormone, Luteinizing Hormone and Testosterone in Stallions. *Biology of Reproduction* 29, 777-789.
- [52] Johnson, L., Thompson, D.L. Jr., Varner, D.D. (2008) Role of Sertoli cell number and function on regulation of spermatogenesis. *Animal Reproduction Science* 105, 23-51.
- [53] Johnson, L., Varner, D.D., Thompson Jr. D.L. (1991) Effect of age and season on the establishment of spermatogenesis in the horse. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement* 44, 87-97.
- [54] Johnsen, S.G. (1970) Testicular biopsy score count- a method for registration of spermatogenesis in human testes: Normal values and Results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1, 2-25.
- [55] Jones, T.C. (1997) Genital System. In *Veterinary Pathology* 6<sup>th</sup> edition. Jones, T.C., Hunt, R.D., King, N.W. editors. Baltimore: Williams & Wilkins. pp 1149-1223.

- [56] Kaushik, S., Mille, T.T., Nazarian, L.N., Foster W.C. (2003) Spectral Doppler sonography of musculoskeletal soft tissue masses. *Journal of Ultrasound in Medicine* 22, 1333-1336.
- [57] Kay, G.W., Grobbelaar, J.A., Hattingh, J. (1992) Effect of surgical restriction of growth of the testicular artery on the testis size and histology in bulls. *Journal of Reproduction and Fertility* 96, 549-553.
- [58] Klohnen, A., Wilson, D.G. (1996) Laparoscopic repair of scrotal hernia in two foals. *Veterinary Surgery* 25, 414-416.
- [59] Koskal, N., Altinli, E., Sumer, A., Celik, A., Onur, E., Demir, K., Sumer, H., Kus, D. (2010) Impact of herniorrhaphy technique on testicular perfusion: results of a prospective study. *Surgical Laparoscopy Endoscopy & Percutaneous Techniques* 20, 186-189.
- [60] de Krester, D.M., Burger, H.G., Hudson, B. (1974) The relationship between germinal cells and serum FSH in males with infertility. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 38, 787.
- [61] de Krester, D.M., Holstein, A.F. (1976) Testicular biopsy and abnormal germ cell. In: *The human semen and fertility regulation*. Hafez, E.S.E. editor. St Louis, Mosby Co. pp. 332-343.
- [62] Köster, K., Nautrup, C.P., Günzel-Apel A-R. (2001) A Doppler ultrasonographic study of cyclic changes of ovarian perfusion in the Beagle bitch. *Reproduction* 71, 453-461.

- [63] Kummer, M., Gygax, D., Jackson, M., Bettschart-Wolfensberger, R., Fürst, A. (2009) Results and complications of a novel technique for primary castration with an inguinal approach in horses. *Equine Veterinary Journal* 41, 547-551.
- [64] Lanning, L.L., Creasy, D.M., Chapin, R.E., Mann, P.C., Barlow, N.J., Regan, K.S., Goodman, D.G. (2002) Recommended approaches for the evaluation of testicular and epididymal toxicity. *Toxicologic Pathology*, 30, 507-520.
- [65] Lefort, C., Thoumas, D., Badachi, Y., Gobet, F., Pfister, c., Dacger, J.N., Benozio, M. (2001) Ischemic orchitis: review of 5 cases diagnosed by color Doppler ultrasonography. *Journal de Radiologie* 82, 839-842.
- [66] Leonard, J.M., Leach, R.B., Couture, M., Paulsen C.A. (1972) Plasma and urine follicle stimulating hormone levels in oligospermia. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 34, 209.
- [67] Lima Neto, E.V., Goldenberg, A., Jucá, M.J. (2007) Prospective study on the effects of a polypropylene prosthesis on testicular volume and arterial flow in patients undergoing surgical correction for inguinal hernia. *Acta Cirurgica Brasileira* 22, 266-271.
- [68] López Milena, G., Medina Benítez, A., Ortega Herrera, R., Rabaza Espigares, J., Romero Manjón, M.I., Hernández Abad, M.J. (2000) Usefulness of Doppler-color ultrasonography and identification of resistance indexes early indicators of testicular infarction secondary to orchioepididymitis. *Actas Urológicas Españolas* 24, 43-47.
- [69] Love, C.C., García, M.C., Riera, F.R., Kenney, R.M. (1991) Evaluation of measures taken by ultrasonography and caliper to estimate testicular volume and

predicts daily sperm output in the stallion. *Journal of Reproduction and Fertility*. Supplement 44, 99-105.

[70] Lysiak, J.J., Nguyen, Q.A., Turner, T.T. (2002) Peptide and non-peptide reactive oxygen scavengers provide partial rescue of testis after torsion. *Journal of Andrology* 23, 400-409.

[71] Mariën, T. (2001) Standing laparoscopic herniorrhaphy in stallions using cylindrical polypropylene mesh prosthesis. *Equine Veterinary Journal* 33, 91-96.

[72] Mariën, T., van Hoeck, F., Adriaenssen, A., Serges, L. (2000) Laparoscopic testis-sparing herniorrhaphy: A new approach for congenital inguinal hernia repair in the foal. *Equine Veterinary Education* 13, 32-35.

[73] Markey, C.M., Jequier, A.M., Meyer, G.T., Martin, G.B. (1994) Testicular morphology and androgen profiles following testicular ischaemia in rams. *Journal of Reproduction and Fertility* 101, 643-650.

[74] McDonnell, S.M. (2000) Reproductive behavior of stallions and mares: comparison of free running and domestic in-hand breeding. *Animal Reproduction Science* 60-61, 211-219.

[75] McLachlan, R.I., Rajpert-De Metys, E., Hoei-Hansen, C.E., de Krester D.M., Skakkebaek, N.E. (2007) Histological evaluation of the human testis-approaches to optimizing the clinical value of the assessment: Mini-review. *Human Reproduction* 22, 2-17.

[76] Metcalf, E.S. (2007) Spermatogenic arrest (Testicular degeneration). In: *Current Therapy in Equine Reproduction*. Samper, J.C., Pycock, J.C., McKinnon, O.A., editors. St Louis: Elsevier Saunders. pp. 212-213.



- [77] Middleton, W.D., Thorne, D.A., Melson, G.L. (1989) Color Doppler ultrasound of the normal testis. *American Journal of Röntgenology* 152, 293-297.
- [78] Moffit, J.S., Bryant, B.H., Hall, S.J., Boekelheidi, K. (2007) Dose-dependent effects of Sertoli cell toxicants 2,5-hexanedione, carbendazim, and mono-(2-ethylhexyl) phthalate in adult rat testis. *Toxicologic Pathology* 35, 719-727.
- [79] Moorman, V.J., Jann, H.W. (2009) Polypropylene mesh repair of a unilateral congenital hernia in the inguinal region in a Thoroughbred filly. *The Canadian Veterinary Journal* 50, 613-616.
- [80] Morales, E., Horn, R., Pastor, L.M., Santamaría, L., Pallarés, J., Zuasti, A., Ferrer, C., Canteras, M. (2004) Involution of seminiferous tubules in aged hamsters: an ultrastructural, immunohistochemical and quantitative morphological study. *Histology and Histopathology* 19, 445-455.
- [81] Mueller, E., Fisher, A.T. (1998) Developmental Conditions of the Scrotum and Testis. In *Large Animal Urogenital Surgery* 2<sup>nd</sup> edition. Wolfe, D.F., Moll, H.D. editors. Baltimore: Williams & Wilkins. pp 37-53.
- [82] Muñoz, E., Argüelles, D., Aresté, L., San Miguel, L., Prades, M. (2008) Retrospective analysis of explorative laparotomies in 192 Andalusian horses and 276 horses of other breeds. *Veterinary Record* 162, 303-306.
- [83] Nakai, M., Moore, B.J., Hess, R.A. (1993) Epithelial reorganization and irregular growth following carbendazim-induced injury of the efferent ductules of the rats. *The Anatomical Record* 235, 51:60.

- [84] Naughton, C.K., Nangia, A.K., Agarwal, A. (2001) Varicocele and male infertility: part II pathophysiology of varicocele in male infertility. *Human Reproduction update* 7, 473-481.
- [85] Oyen, R.H. (2002) Scrotal ultrasound. *European Radiology* 12, 19-34.
- [86] Palabiyik, F.G., Cimilli, T., Kayhan, A., Toksoy, N. (2009) Do the manipulations in pediatric inguinal hernia operations affect the vascularization of the testes? *Journal of Pediatric Surgery* 44, 788-790.
- [87] Paltiel, H.J., Rupich, R.C., Babcock, D.S. (1994) Maturational changes in arterial impedance of normal testis in boys: Doppler sonographic study. *American Journal of Roentgenology* 163, 1189-1193.
- [88] Paniagua, R., Nistal, M., Amat, P., Rodríguez, M.C., Martín, A. (1987) Seminiferous tubule involution in elderly men. *Biology of Reproduction* 36, 939-947.
- [89] Parelkar, S.V., Oak, S., Bachani, M.K., Sanghvi, B., Prakash, A., Patil, R., Sahoo, S., Patel, J. (2011) Laparoscopic repair of pediatric inguinal hernia—is vascularity of the testis at risk? A study of 125 testes. *Journal of Pediatric Surgery* 46, 1813-1816.
- [90] Parra-Saavedra, M., Crovetto, F., Triunfo, S., Savchev, S., Parra, G., Sanz, M., Gratacos, E., Figuera, E. (2013) Added value of umbilical flow as a predictor of perinatal outcome in term small-for-gestational-age fetuses. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 42, 189-195.
- [91] Peiper, C., Junge, K., Klinge, U., Strehlau, E., Krones, C., Ottinger, A., Schumpelick, V. (2005) The influence of inguinal mesh repair on the spermatic cord: a pilot study in the rabbit. *Journal of Investigative Surgery* 18, 273-278.

- [92] Peiper, C., Junge, K., Klinge, U., Strehlau, E., Ottinger, A., Schumpelick, V. (2006) Is there a risk of infertility after inguinal mesh repair? Experimental studies in the pig and the rabbit. *Hernia* 10, 7-12.
- [93] Pinggera, G-M., Mitterberger, M., Bartsch, G., Strasser, H., Gradl, J., Aigner, F., Pallwein, L., Frauscher, F. (2008) assessment of the intratesticular resistive index by color Doppler ultrasonography measurements as a predictor of spermatogenesis. *BJU International* 101, 722-726.
- [94] Porter, K.L., Shetty, G., Meistrich, M.L. (2006) Testicular edema is associated with spermatogenesis arrest in irradiated rats. *Endocrinology* 147, 1297-1305.
- [95] Pozor, M.A. (2007) Evaluation of the testicular vasculature in stallions. *Clinical Techniques in Equine Practice* 6, 271-277
- [96] Pozor, M.A., McDonnell, S.M. (2002) Ultrasonographic measurements of accessory sex glands, ampullae and urethra of normal stallions of various size types. *Theriogenology* 59, 1425-1433.
- [97] Pozor, M.A., McDonnell, S.M. (2004) Color Doppler ultrasound examination of the testicular blood flow in stallions. *Theriogenology* 61, 799-810.
- [98] Pozor, M.A., Muehlhaus, J., King, A., Macpherson, M.L., Troedsson, M.H., Bailey, C.S. (2011) Effect of pentoxifylline treatment on testicular perfusion and semen quality in Miniature horse stallions. *Theriogenology* 76, 1027-1035.
- [99] Pozor, M.A., Nolin, M., Roser, J., Runyon, S., Macpherson, M.L., Kelleman, A. (2014) Doppler index of vascular impedance as an indicator of testicular dysfunction in stallions. *Journal of Equine Veterinary Medicine* 34

- [100] Ragle, C.A., Yiannikouris, S., Tibary, A.A., Fransson, B.A. (2013) Use of a barbed suture for the laparoscopic closure of the internal inguinal rings in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 242, 249-253.
- [101] Ramadan, S.U. Gokharman, D., Tuncbilek, I., Ozer, H., Kosar, P., Kacar, M., Temel, S., Kosar, U. (2009) Does the presence of a mesh have an effect on the testicular blood flow after the surgical repair of indirect inguinal hernia?. *Journal of Clinical Ultrasound* 37, 78-81.
- [102] Reid. I., Devlin, H.B. (1994) Testicular atrophy as a consequence of inguinal hernia repair. *The British Journal of Surgery* 81, 91-93.
- [103] Reyes, J.G., Farias, J.G., Henríquez-Olavarrieta, S., Madrid, E., Parraga, M., Zepeda A.B., Moreno, R.D. (2012) The hypoxic testicle: Physiology and pathophysiology. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* doi: 10.1155/2012/929285. Epub 2012 Sep 27.
- [104] Richardson, D.W. (1985) Urogenital problems in the neonatal foal. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 1, 179-188.
- [105] Ridgway, P.F., Shah, J., Darzi, A.W. (2002) Male genital tract injuries after contemporary inguinal hernia repair. *BJU International* 90, 272-276.
- [106] Roberts, S.J. (1971) *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*. 2<sup>nd</sup> edition. Ithaca: published by the author
- [107] Robertson, J.T., Embertson, R.M. (1988) Surgical management of congenital and perinatal abnormalities of the urogenital tract. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 4,359-379.

- [108] Rodríguez-Martínez H (1992) Sperm production in the stallion. *Acta Veterinaria Scandinavica. Supplementum* 88, 9-28.
- [109] Roser, J.F. (2011) Endocrine-paracrine-autocrine regulation of reproductive function in the stallion. In: *Equine Reproduction* 2<sup>nd</sup> edition. McKinnon, A.O., Squires, E.L., Vaala, W.E., Varner, D.D. editors. Chichester: Wiley-Blackwell. pp 996-1015.
- [110] Ross, M.H., Male reproductive system. In *Histology A Text and Atlas* 3<sup>rd</sup> edition . Ross, M.H, Romrell, L.J., Kaye, G. editors. Baltimore, Williams & Wilkins. pp 636-677.
- [111] Rossignol, F., Mespoulhes-Rivière, C., Vitte, A., Lechartier, A., Boening, K.J. (2014) Standing laparoscopic inguinal hernioplasty using cyanocrilate for preventing recurrence of acquired strangulated inguinal herniation in 10 stallions. *Veterinary Surgery* 43, 6-11.
- [112] Rossignol, F., Perrin, R., Boening, K.J. (2007) Laparoscopic hernioplasty in recumbent horses using transposition of a peritoneal flap. *Veterinary Surgery* 36, 557-562.
- [113] Sanders, L.M., Haber, S., Dembner, A., Aquino, A. (1994) Significance of reversal of diastolic flow in the acute scrotum. *Journal of Ultrasound in Medicine* 13, 137-139.
- [114] Schneider, R.K., Milne, D.W., Kohn, C.W. (1982) Acquired inguinal hernia in the horse: a review of 27 cases. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 180, 317-320.

- [115] Sheynkin, Y.R., Hendin, B.N., Schlegel, P.N., Goldstein, M. (1998) Microsurgical repair of iatrogenic injury to the vas deferens. *The Journal of Urology* 159, 139-141.
- [116] Shin, D., Lipschultz, L.I., Goldstein, M., Barmé G.A., Fuchs, E.F., Nagler, H.M. et al. (2005) Herniorrhaphy with polypropylene mesh causing inguinal vassal obstruction: a preventable cause of obstructive azoospermia. *Annals of Surgery* 241, 553-558.
- [117] Schmedt, C.G., Sauerland, S., Bittner, R. (2005) Comparison of endoscopic procedures vs. Lichtenstein and other open mesh techniques for inguinal hernia repair: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Surgical Endoscopy* 19, 188-199.
- [118] Schumacher, J. (2012) Testis. In *Equine Surgery*, 4<sup>th</sup> edition. Ed Auer, J.A., Stick, J.A., editors. St Louis: Elsevier Saunders. pp 804-840.
- [119] Schumacher, J., Perkins, J. (2010) Inguinal herniation and rupture in horses. *Equine Veterinary Education* 22, 7-22.
- [120] Schurich, M., Aiger, F., Frauscher, F., Pallwein, F. (2009) The role of ultrasound in assessment of male fertility. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 144, Supplement 1 S192-198.
- [121] Sembrat, R.F. (1975) The acute abdomen in the horse: Epidemiologic considerations. *Veterinary Surgery* 4, 34-39.
- [122] Shin, D., Lipschultz, L.I., Goldstein, M., Barmé, G.A., Fuchs, E.F., Nagler, H.M., McCallum, S.W., Niederberger, C.S. Schoor, R.A., Brugh, V.M. 3<sup>rd</sup>, Honin, S.C. (2005) Herniorrhaphy with polypropylene mesh causing inguinal vassal obstruction: a preventable cause of obstructive azoospermia. *Annals of Surgery* 241, 553-558.

- [123] Shoemaker, R., Bailey, J., Janzen, E., Wilson, D.G. (2004) Routine castration in 568 draught colts: incidence of evisceration and omental herniation. *Equine Veterinary Journal* 35, 336-340.
- [124] Sieme H (2009) Semen Evaluation. In *Equine Breeding Management and Artificial Insemination 2<sup>nd</sup> edition*. Samper, J.C. editor. St Louis: Saunders. pp 57-74.
- [125] Simons, M.P., Aufanaker, T., Bay-Nielsen, M., Bouillot, J.L., Campanelli, G., Conze, J., et al. (2009) European hernia society guidelines on the treatment of inguinal hernias in adult patients. *Hernia* 13, 343-403.
- [126] Skakkebaek, N.E., Heller, C.G. (1973) Quantification of human seminiferous epithelium. *Journal of Reproduction and Fertility* 32, 379-389.
- [127] Spurlock, G.H., Robertson, J.T. (1988) Congenital inguinal hernias associated with a rent in the common vaginal tunic in five foals. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 193, 1087-1088.
- [128] Squires, E.L., Pickett, B.E. (2011) Factors affecting sperm production and output. In *Equine Reproduction 2<sup>nd</sup> edition*. McKinnon, A.O., Squires, E.L., Vaala WE, Varner, D.D. editors. Chichester, Wiley-Blackwell. pp 1344-1361.
- [129] Steinberger, E., Tjioe, D.J. (1968) A method for quantitative analysis of human seminiferous epithelium. *Fertility and Sterility* 19, 960.
- [130] Stula, I., Družijanic, N., Sršen, D., Capkun, V., Perko, Z., Sapunar, A., Kraljević, D., Bošnjak, N., Pogorelić, Z. (2012) Influence of inguinal hernia mesh repair on testicular flow and sperm autoimmunity. *Hernia* 16, 417-424.

- [131] Sweeny, T.E., Rozum, J.S., Gore, R.W. (1995) Alteration of testicular microvascular pressures during venous pressure elevation. *American Journal of Physiology* 269, H37-H45.
- [132] Tarhan, S., Gumus, B., Gunduz, I., Ayyildiz, V., Goktan, C. (2003) Effect of varicocele on testicular artery blood flow in men—color Doppler investigation. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology* 37, 38-42.
- [133] Tekatli, H., Schouten, N., van Dalen, T., Burgmans, I., Smakan, N. (2012) Mechanism, assessment, and incidence of male infertility after inguinal hernia surgery: a review of the preclinical and clinical literature. *The American Journal of Surgery* 204, 503-509.
- [134] Thompson, D.L., Pickett, B.W., Squires, E.L., Amann, R.P. (1979) Testicular measurements and reproductive characteristics in stallions. *Journal of Reproduction and Fertility*. Supplement 13-17.
- [135] Threlfall, W.R. (2011) Testicular biopsy. In: *Equine Reproduction* 2<sup>nd</sup> edition. McKinnon, A.O., Squires, E.L., Vaala, W.E., Varner, D.D. editors. Chichester: Wiley-Blackwell. pp. 1523-1530.
- [136] Turner, R.M.O. (2007) Testicular abnormalities. In *Current Therapy in Equine Reproduction*. Samper, J.C., Pycock, J.C., McKinnon, O.A. editors. St Louis, Elsevier Saunders. pp 195-204.
- [137] Umstead, J.A., Nyack, B., Padmore, C.L. (1986) Inguinal ring herniation in a female Shetland pony. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 8, 164.



- [138] Uzzo, R.G., Lemack, G.E., Morrissey, K.P., Goldstain, M. The effects of mesh bioprosthesis on the spermatic cord structures: a preliminary report in a canine model. *The Journal of Urology* 161, 1344-1349.
- [139] Vaughan, J.T. (1980) Surgery of the testes. In *Bovine and equine urogenital surgery*. Ed Walker, D.F., Vaughan, J.T. Philadelphia: Lea & Febiger. pp 145-169.
- [140] Varner, D.D., Blanchard, T.L., Brinsko, S.P., Love, C.C., Taylor, T.S., Johnson, L. (2000) Technique for evaluating selected reproductive disorders of stallions. *Animal Reproduction Science* 60-61, 493-509.
- [141] Varner, D.D., Schumacher, J., Blanchard, T.L., Johnson L. (1991) *Diseases and Management of Breeding Stallions*. Goleta: American Veterinary Publications.
- [142] van der Velden, M.A. (1988) Surgical treatment of acquired inguinal hernia in the horse: a review of 51 cases. *Equine Veterinary Journal* 20, 173-177.
- [143] van der Velden, M.A., van der Harst, M.R. (2004) Inguinal herniation in foals. Literature review and a case report. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 129,286-292.
- [144] Di Vita, G., Milano, S., Frazzeta, M., Patti, R., Palazzolo, V., Barbera, C., Ferlazzo, V., Leo, P. Cillari, E. (2000) Tension-free hernia repair is associated with an increase in inflammatory response markers against the mesh. *American Journal of Surgery* 180, 203-207.
- [145] Wantz, G.E. (1991) Testicular atrophy. A risk of inguinal hernioplasty. *Chirurgie* 117, 645-651.
- [146] Wantz, G.E. (1986) Testicular atrophy as a sequel of inguinal hernioplasty. *International Surgery* 71, 159-163.

- [147] Watson, E.D., Clarke, C.J., Else, R.W., Dixon, P.M. (1994) Testicular degeneration in three stallions. *Equine Veterinary Journal* 26, 507-510
- [148] Weaver, A.D. (1987) Incarcerated inguinal hernia: a review of 13 horses. *The Canadian Veterinary Journal* 28,195-199.
- [149] Wilderjans, H., Meulyzer, M., Simon, O. (2012) Standing laparoscopic peritoneal flap hernioplasty technique for preventing recurrence of acquired strangulating inguinal herniation in stallions. *Veterinary Surgery* 41, 292-299.
- [150] Wilderjans, H., Simon, O., Boussauw, B. (2008) A novel approach to the management of inguinal hernias: results of manual closed, nonsurgical reduction followed by a delayed laparoscopic closure of the vaginal ring. *Proceedings of the 47<sup>th</sup> British Equine Veterinary Association Congress*. Liverpool, United Kingdom, 10<sup>th</sup>-13<sup>th</sup> September, 2008.
- [151] Wright, J.G. (1963) The surgery of the inguinal canal in animals. *The Veterinary Record* 75, 1352.
- [152] Yavetz, H., Harash, B., Yogev, L., Homonnai, Z.T., Paz, G. (1991) Fertility of men following inguinal hernia repair. *Andrologia* 23, 443-446.
- [153] Zelli, R., Troisi, A., Elad Ngonput, A., Cardinali, L., Polisca, A. (2013) Evaluation of testicular arterial blood flow by Doppler ultrasonography as a predictor of spermatogenesis in the dog. *Research in Veterinary Science* 95, 632-637.
- [154] Zukerman, Z., Rodríguez-Rigau, L.J., Weiss, D.B., Chowdhury, A.K., Smith, K.D., Steinberger, E. (1978) Quantitative analysis of the seminiferous epithelium in human testicular biopsies, and the relation of spermatogenesis to sperm density. *Fertility and Sterility* 30, 448-455.

## *Índice*

• Título.....	1
• Informe de los directores.....	1
• Dedicatoria.....	2
• Agradecimientos.....	3
• Introducción.....	7
1. Hipótesis.....	9
2. Objetivos.....	9
• Revisión bibliográfica.....	10
1. Hernias inguinales.....	11
2. Tratamiento.....	13
2.1 Tratamiento médico.....	13
2.2 Tratamiento quirúrgico.....	13
2.2.1 Abordajes abiertos.....	13
2.2.2 Técnicas mínimamente invasivas.....	14
3. Técnicas laparoscópicas de hernioplastia y herniorrafia.....	15
3.1Técnicas laparoscópicas de herniorrafia.....	15
3.2Técnicas laparoscópicas de hernioplastia.....	16
3.3Resumen general de la técnicas laparoscópicas publicadas.....	20
4. Complicaciones de las técnicas laparoscópicas.....	21
5. Pronóstico.....	23
6. Estudios en otras especies.....	25

7. Evaluación del semen en caballos.....	28
8. Evaluación del flujo sanguíneo testicular mediante ecografía en modo Doppler pulsado.....	32
8.1 Equipamiento.....	33
8.2 Ecografía en modo B.....	34
8.3 Ecografía Doppler color y pulsada.....	34
8.4 Ecografía Doppler color y pulsada en sementales.....	39
9. Evaluación histológica del testículo.....	41
9.1 Evaluación histológica del testículo en équidos.....	46
• Materiales y métodos.....	48
1. Animales.....	49
2. Procedimientos quirúrgicos.....	50
2.1 Hernioplastia.....	50
2.2 Laparoscopia de control.....	55
2.3 Castración.....	55
3. Palpación e inspección.....	56
4. Análisis del semen.....	56
4.1 Estudio estadístico de los datos obtenidos del análisis del semen.....	57
5. Evaluación del flujo sanguíneo testicular.....	58
5.1 Estudio estadístico de los datos obtenidos del flujo sanguíneo.....	60
6. Estudio anatomopatológico.....	60
6.1 Estudio estadístico de las variables histológicas cuantitativas.....	64

• Resultados.....	65
1. Complicaciones intra y postoperatorias. Seguimiento durante el periodo de estudio.....	66
2. Laparoscopia de control a los tres meses.....	66
3. Resultados del análisis del semen.....	67
4. Resultados del estudio del flujo testicular.....	67
5. Resultados del estudio anatomopatológico.....	70
• Discusión.....	76
1. Complicaciones intra y postoperatorias de las hernioplastias y de la laparoscopias de seguimiento.....	79
2. Estudio del análisis del semen.....	80
3. Estudio del flujo testicular.....	82
4. Estudio anatomopatológico.....	87
• Conclusiones.....	92
• Resumen.....	95
• Summary.....	98
• Bibliografía.....	101
• Índice.....	122