

Wykorzystanie ultrasonografii dopplerowskiej w rozrodzie krów

JĘDRZEJ M. JAŚKOWSKI, JAN WŁODAREK, MAREK GEHRKE*, ZDZISŁAW BORYCZKO

Instytut Weterynarii, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,
ul Wołyńska 35, 60-637 Poznań

*Zakład Hodowli Bydła, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy,
ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

Jaśkowski J. M., Włodarek J., Gehrke M., Boryczko Z.

Use of Doppler ultrasonography in the reproduction of cows

Summary

Transrectal colour Doppler ultrasonography is a useful non-invasive technique used for the assessment of blood flow through the reproductive organ during various cycle phases, pregnancy, and postpartum period. It also provides additional information on physiological and pathological processes in the ovaries and the uterus, which may contribute to the development of new methods for the treatment of reproductive disorders in cattle. The purpose of this work was to present the use of Doppler ultrasonography, which consists in the colour imaging of blood flow through vessels, during the reproduction of cattle. During the oestrus cycle in cows, colour Doppler ultrasonography and the so-called Power Doppler are excellent tools for the assessment of ovarian follicles during the oestrus cycle and of changes during the first 12 weeks after calving. It has also been used to examine the effects of superovulation by measuring the uterine blood flow and its relationship with the steroid hormone level, reaction of ovaries, and the number of embryos obtained in cows. Hormonal stimulation is related to a significant increase in blood flow velocity (BFV) and a reduction in the pulsation index (PI) in uterine arteries, concurrent with the development of numerous follicles and corpora lutea. Colour Doppler techniques can offer useful information for the assessment of corpus luteum (CL) function. Since proper angiogenesis plays an important role in correct CL functioning, research on blood flow volume may provide valuable information on CL physiology and physiopathology. Doppler ultrasonography is also an excellent method for the differentiation of ovarian cysts. The blood flow field in the cyst wall was found to be positively correlated with the progesterone level in blood. Colour Doppler ultrasonography has also been used to investigate the relationship between vascular blood flows inside the uterine horns during pregnancy and the location of the embryo, as well as for the assessment of its development rate on the basis of the endometrial vascularisation index. It has also been found that CL vascularisation increases in the first three weeks of pregnancy, and the assessment of CL parameters between the 5th and the 10th day after insemination could be a valuable method for pregnancy diagnosis as well as a marker for pregnancy loss. The transrectal colour Doppler ultrasonography method considerably accelerates and improves the detection of fertility disorders, which results in direct economic benefits of production.

Keywords: Doppler techniques, cows, reproduction

Technika kolorowego Dopplera (color Doppler – CD) polega na barwnym obrazowaniu przepływu (perfuzji) krwi w naczyniach, umożliwiając ich precyzyjną lokalizację. Widoczne na ekranie zmiany nasycenia barwy odpowiadają różnym szybkościom, względnie energii przepływu krwi. Technika ta dynamicznie rozwinęła się w różnych obszarach medycyny, służąc do oceny elastyczności naczyń krwionośnych, identyfikacji obniżonego przepływu krwi charakteryzującego obszary niedokrwienia, przekrwienia zapalnego lub zwiększonego i nieregularnego przepływu

w szybko rosnących, dobrze unaczynionych guzach nowotworowych, a także we wczesnym rozpoznawaniu zmian patologicznych w obrębie miększu wątroby. Wykorzystywana jest też w położnictwie do oceny powikłań ciąży oraz określania funkcjonalnej aktywności pęcherzyków jajnikowych u kobiet. Kolorowe obrazowanie przepływu, nazywane także sonoangiografią (color energy, color angio, Power Doppler), wprowadzone zostało w 1993 r. Doppler mocy jest techniką wizualizacji powszechnie uważaną za bardziej czułą od kolorowego obrazowania prędkości

przepływu, zwłaszcza w obrazowaniu przepływów powolnych – m.in. badaniu naczyń obwodowych. Umożliwia odwzorowanie anatomicznego przebiegu naczyń nawet w obszarach, w których trudności obrazowania są wynikiem niewielkich przepływów krwi (26). Pozwala także uwidocznąć przepływy tkankowe w sytuacjach kiedy naczynia są małe lub głęboko położone (26, 36). Od kilku lat obserwuje się wzrost zainteresowania techniką kolorowego Dopplera w ginekologii weterynaryjnej i andrologii (7, 15, 21, 29). Niektórym elementom z tego obszaru badań poświęcono niniejsze opracowanie.

Pęcherzyki jajnikowe i prognozowanie wyniku superowulacji

Zaopatrzenie w krew pęcherzyków jest ściśle powiązane ze wzrostem pęcherzyka, atrezią i owulacją. U krów podczas cyklu rujowego kolorowa ultrasonografia dopplerowska i Doppler mocy są znakomitymi narzędziami do oceny angiogenezy, umożliwiając ocenę stanu funkcjonalnego pęcherzyków jajnikowych (28). Perfuzja pęcherzyków jajnikowych jest znacząco wyższa w pęcherzyku dominującym niż pęcherzykach podrzędnych, natomiast w pęcherzykach artretycznych brak jest przepływu krwi, co obrazowane jest w standardowej skali szarości (1, 3). Podobnie, korzystając z tej techniki, potwierdzono hipotezę o dodatniej korelacji pomiędzy wielkością dopływu krwi do przedowulacyjnego pęcherzyka a późniejszym prawidłowym rozwojem ciąży (20). Ze wstępnych badań wynika, że przepływ krwi w pęcherzykach jajnikowych, mierzony maksymalnym polem powierzchni kolorowych pikseli i przepływem krwi w macicy oceniany na podstawie uśrednionego czasu przepływu maksymalnej objętości krwi oraz indeksu pulsacji naczyń macicy podczas owulacji jest wyższy po indukcji luteolizy przeprowadzanej podczas pierwszej fali wzrostu pęcherzyków jajnikowych w porównaniu do drugiej ich fali, względnie naturalnego cyklu rujowego (20). Z nowszych danych wynika, że liczba małych pęcherzyków jajnikowych, które wykazują przepływ krwi w momencie startu terapii gonadotropinami może być użytecznym wskaźnikiem przewidywania wyniku superowulacji (19, 28).

W innych badaniach oceniano u krów efekt podawania gonadotropiny w celu indukcji superowulacji na podstawie pomiaru macicznego przepływu krwi i związku tego przepływu z poziomem hormonów steroidowych, reakcją jajników i liczbą pozyskanych zarodków. Reakcja jajników była definiowana liczbą pęcherzyków o średnicy > 5,0 mm w 13. dniu cyklu rujowego oraz liczbą ciałek żółtych w dniu wypłukiwania zarodków. Unaczynienie macicy oceniano na podstawie prędkości przepływu krwi (blond flow velocity – BFV) i indeksu pulsacji (PI) w tętnicach macicznych (19). Obie zmienne wykazywały podczas superowulacji różną dynamikę: BFV wzrastała o 94%,

a PI obniżał się o 30%, między dniem startu programu superowulacji a dniem pozyskiwania zarodków. W 13. dniu cyklu rujowego – po zakończeniu stymulacji hormonalnej – BFV korelowała z liczbą pęcherzyków jajnikowych, czego nie notowano w odniesieniu do PI. W dniu pozyskiwania zarodków BFV korelował dodatnio, natomiast PI ujemnie z liczbą stwierdzonych na jajnikach ciałek żółtych i poziomem progesteronu. Liczba zarodków przydatnych do transferu natomiast korelowała z BFV mierzonym w 13. dniu cyklu. Badania te po raz pierwszy wykazały, że stymulacja hormonalna u krów stosowana podczas programu superowulacji jest związana ze znaczącym wzrostem BFV i obniżeniem PI w tętnicach macicznych, zbieżnym z rozwojem licznych pęcherzyków i ciałek żółtych. Wykazano też, że transrektalna kolorowa sonografia dopplerowska tętnic macicznych nie ułatwia prognozy odnośnie do liczby zarodków pozyskiwanych w efekcie prowokowania owulacji mnogiej.

Ciałko żółte

Transrektalna kolorowa ultrasonografia dopplerowska (transrectal color Doppler sonography (TCDS)) umożliwia ocenę przepływu krwi w ciałku żółtym (luteal blond flow – LBF) u krów (8). Jak wynika z niektórych badań, określenie wielkości przepływu krwi w ciałku żółtym może dostarczyć wielu ważnych informacji odnośnie do oceny funkcji CL i nasilenia angiogenezy (8, 30, 31). Właściwa angiogeneza w pierwszych dniach po owulacji odgrywa zasadniczą rolę w przedostawaniu się steroidów ciałka żółtego do krwioobiegu. Zapewnia także transport do komórek lutealnych krążących substratów oraz lipoprotein o niskiej gęstości, niezbędnych do biosyntezy progesteronu. Z tego powodu wydaje się, że dopływ krwi do jajników i CL mogą być szczególnie ważne dla regulacji funkcji tego gruczołu dokrewnego (30). Zaopatrzenie w krew zwiększa się równolegle ze wzrostem ciałka żółtego. Z kolei gwałtowny wzrost przepływu krwi notowano w dojrzałym ciałku żółtym krótko przed jego regresją (28). Jak się wydaje, we wczesnym ciałku żółtym (4. dzień cyklu) większość barwnych obszarów odpowiadających przepływowi krwi obserwowano w podstawnej jego części, podczas gdy obszary barwne w rozwiniętym ciałku żółtym (10.-12. dzień) lokalizowały się głównie na jego obwodzie, stanowiąc około 20% całkowitej powierzchni. Wzmocniony przepływ krwi w CL notowano po iniekcji prostaglandyny. Już po 30 minutach pojawiał się wykrywalny obszar przepływu krwi, który przemieszczał się z obwodowych do wewnętrznych partii ciałka żółtego, obejmując 35-45% całkowitego pola powierzchni CL. Zmian takich nie obserwowano w przypadku podania prostaglandyny we wczesnym okresie cyklu rujowego, co łączone jest z brakiem wrażliwości CL na prostaglandynę w tym okresie. Wydaje się, że nagły wzrost przepływu krwi wewnątrz ciałka żółtego po iniekcji pro-

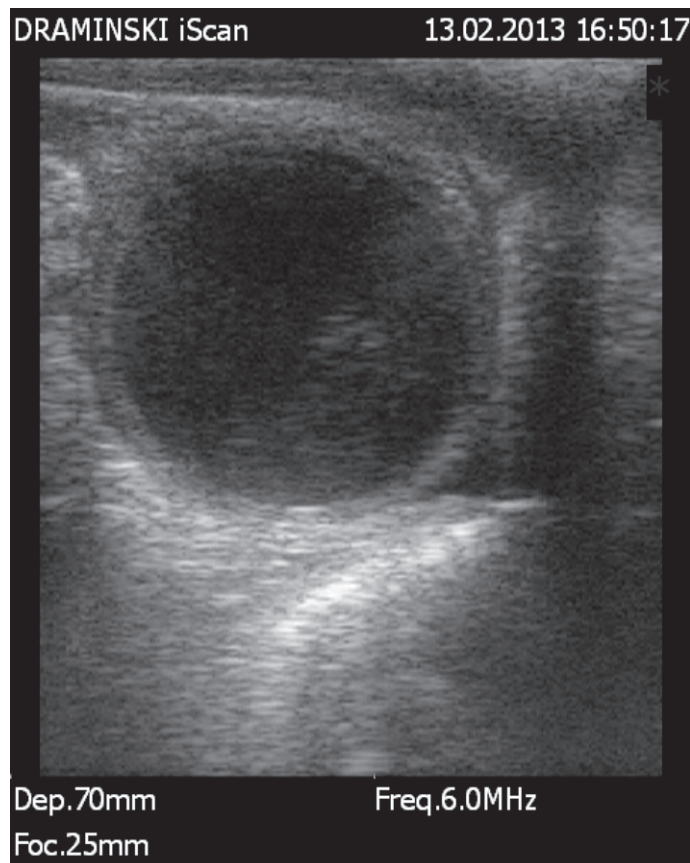
staglandyny może inicjować kaskadę luteolityczną poprzez produkcję naczyniowo aktywnych substancji, takich jak endotelina 1 i angiotensyna II. Zmiany w krążeniu krwi, wywołane zmianą średnicy naczyń krwionośnych w obrębie ciała żółtego, wykrywalne kolorowym Dopplerem są efektem m.in.: hipertrofii i hiperplazji komórek w ścianie naczyń krwionośnych, akumulacją włókien kolagenowych, degeneracją błony wewnętrznej i uwypukleniem komórek śródbłonka do światła kapilar (2).

Podczas funkcjonalnej luteolizy, rozpoczynającej się u jałowic około 16.-19. dnia cyklu rujowego, stężenie progesteronu obniża się. Zmniejszają się także rozmiary ciała żółtego i wielkość przepływu krwi. W badaniach przeprowadzonych w 12-godzinnych odstępach między 13. a 22. dniem cyklu następowało 25% zmniejszenie pola powierzchni CL i 65% zmniejszenie przepływu krwi już na 12 godzin przed funkcjonalną luteolizą ($P4 < 1 \text{ ng/ml}$) (30). Badania krów podczas cyklu rujowego wykazały, że koncentrację progesteronu we krwi, w szczególności podczas regresji ciała żółtego, łatwiej przewidzieć na podstawie wartości wielkości przepływu krwi w ciałku żółtym niż na podstawie rozmiarów ciała żółtego (8, 12). W innych badaniach ustalono, że rozmiary ciała żółtego ocenianego ultrasonograficznie podwajały się podczas fazy lutealnej do 7. dnia cyklu rujowego, pozostawały na podobnym poziomie w fazie statycznej (8-16) i zmniejszały stopniowo w fazie regresji (-5 do -1 dni). Z kolei wielkość przepływu krwi ulegała podwojeniu w fazie wzrostu ciała żółtego, podwajała się ponownie w fazie stałej oraz obniżała raptownie w fazie regresji. Ustalono, że przepływ krwi przez ciałko żółte stanowi niezawodny wskaźnik statusu lutealnego i pozwala z powodzeniem prognozować poziomy progesteronu powyżej 1 ng/ml przy osiągnięciu przez CL zaledwie 35% maksymalnej objętości, podczas gdy rozmiary ciała żółtego muszą być wyższe od 60% maksymalnej jego objętości w celu niezawodnego wykazania obecności funkcjonalnego ciała żółtego (16).

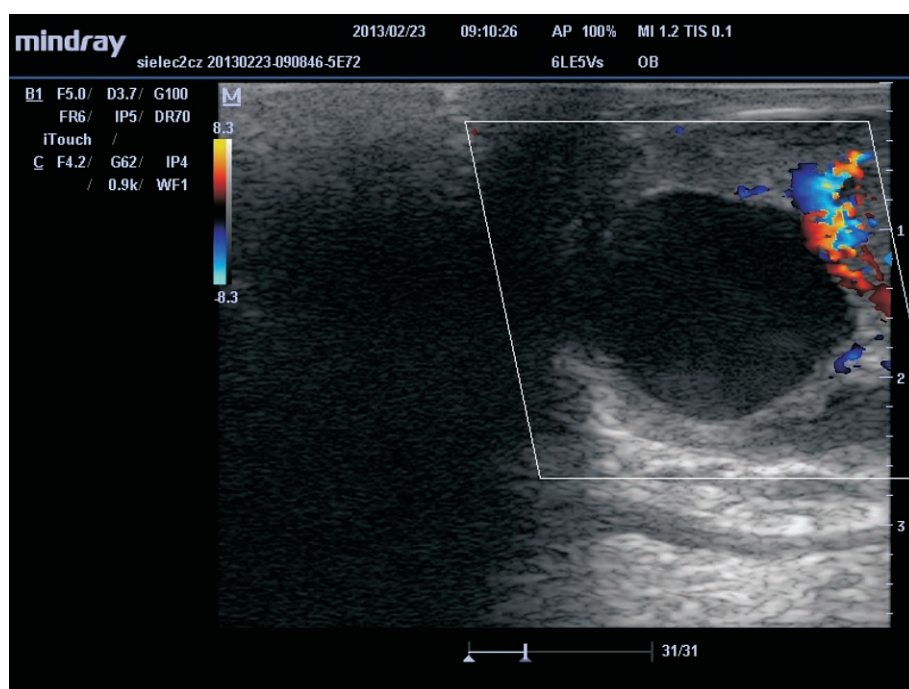
Zmiany w unaczynieniu ciała żółtego obserwowano także u krów, którym w 5 dni po inseminacji podawano GnRH lub zakładano wkładki CIDR. O ile podanie GnRH zwiększało dopływ krwi do CL i powodowało istotny wzrost stężenia progesteronu w 12. dniu po inseminacji, o tyle wprowadzenie wkładki progesteronowej było powodem redukcji unaczynienia ciała żółtego i obniżenia koncentracji hormonu ciążywego (13).

Cysty jajnikowe

Częstość cyst jajnikowych u krów wynosi od 5,2% do 27,9% i jest jedną z istotnych przyczyn zaburzeń płodności u bydła (23, 25). Klinicznie przyjmuje się za cysty pęcherzowate twory o średnicy powyżej 2,5 cm



Ryc. 1. Duża cysta pęcherzykowa w czarno-białej prezentacji (iScan, Dramiński)



Ryc. 2. Ta sama cysta z widocznym wyraźnym przepływem krwi w ścianie cysty sugeruje obecność komórek lutealnych (color Doppler, Mindray)

utrzymujące się na jajniku przez więcej niż 10 dni. W badaniu ultrasonograficznym za kryterium cystowatości przyjmuje się – według różnych autorów – pęcherzyki o średnicy większej od, odpowiednio, 20 i 17 mm przy przetrwałości tych struktur minimum 7 dni (6, 11, 14, 36). Ich pole powierzchni wynosi przeważnie około 1600 mm², co odpowiada w przybliżeniu 4,5 cm średnicy (32). Małe pęcherzyki nie różnicują się w pęcherze o średnicy powyżej 25 mm. W przypadku cyst pęcherzykowych, których ściany mają grubość mniejszą niż 3 mm, poziom progesteronu we krwi jest niższy od 1 ng/ml. Ściana cyst luteinowych jest grubsza od 3 mm, a towarzyszący im poziom progesteronu we krwi wyższy od 1 ng/ml. Cysty są w badaniu klinicznym *per rectum* tworami stosunkowo łatwo rozpoznawalnymi, jednak palpacyjne rozróżnienie ich rodzaju napotyka na duże trudności. Problemy te w mniejszym stopniu dotyczą monochromatycznego badania ultrasonograficznego. Potwierdzają to fakty. O ile pozytywna wartość prognostyczna wynosi dla cyst pęcherzykowych i luteinowych w badaniu rektalnym 66,1%, to w badaniu ultrasonograficznym wzrasta do, odpowiednio, 74% i 85%. Podobnie wysoka, choć daleka od ideału, jest w badaniu ultrasonograficznym czułość i specyficzność, które wynoszą, odpowiednio, 61,5% i 100%. Dodatkowy pomiar koncentracji P4 w mleku lub osoczu krwi zwiększa prawdopodobieństwo właściwej diagnozy. Błędna diagnoza – w tym przypadku złe rozpoznanie rodzaju cysty, pociągając może za sobą niewłaściwą terapię (32). Co interesujące, rozróżnianie cyst jajnikowych nie stanowi większego problemu w badaniu dopplerowskim. Ocenie podlega w nim wielkość pola przepływu krwi w ścianie cysty jajnikowej. Równocześnie, im większe było pole przepływu krwi w ścianie cysty, tym wyższy był poziom progesteronu. W ocenie porównawczej cyst pęcherzykowych i luteinowych w badaniach ultrasonograficznych za tzw. złoty standard (potwierdzony badaniem hormonalnym) przyjmuje się pole powierzchni ścian pęcherzyka wynoszące przynajmniej 90 mm². Graniczny obszar perfuzji w cystach jajnikowych ocenianych ultrasonografem dopplerowskim wynosił około 40 mm². Im większe było pole perfuzji krwi ściany cysty, tym silniej złuteinizowana była jej ściana. Ocena wielkości perfuzji ściany przeprowadzana 10-12 dni po podaniu GnRH może być także znakomitym sposobem pomiaru efektów leczenia torbieli jajnikowych. W przypadku krów leczonych GnRH i reagujących na terapię (wzrost stężenia progesteronu 10-12 dni po rozpoczęciu terapii), już 30 minut po podaniu preparatu obszar barwny u większości w ten sposób leczonych krów ulegał powiększeniu o 59,3%, natomiast u niewielkiej ich części zmniejszył się o 19,7%. U krów nie reagujących na terapię powiększenie lub zmniejszenie pola perfuzji wynosiło, odpowiednio, 15,9% i 16,8% (32). Podobną ocenę efektów terapii cyst jajnikowych po podaniu GnRH umożliwiał obserwowany na czarno-

-białym obrazie ultrasonografu wzrost liczby pikseli, będący odbiciem rosnącego unaczynienia ściany cyst jajnikowych (33). Z wielu badań wynika, że część cyst, a także duże pęcherzowate twory pojawiające się na jajnikach w okresie poporodowym mogą ulegać spontanicznej regresji. W oparciu o ultrasonograficzny pomiar ich średnicy oraz struktury ścian nie jest jednak możliwe ustalenie dalszych losów torbieli (pozostawanie na jajniku, spontaniczna regresja). Jak się obecnie wydaje, równie mało prawdopodobne jest precyzyjne przewidywanie losów cyst jajnikowych w oparciu o badanie dopplerowskie (22).

Ciąża, strata ciąży

Kolorowa ultrasonografia dopplerowska używana była do badania zależności pomiędzy naczyniowymi przepływami wewnątrz rogów macicznych podczas ciąży oraz umożliwiała prawidłową lokalizację zarodka i ocenę tempa rozwoju ciąży w oparciu o wskaźnik unaczynienia *endometrium*. Unaczynienie *endometrium* wzrasta proporcjonalnie w obu rogach macicy między 14. a 18. dniem po inseminacji (dzień 0 = owulacja) u niecielnych jałowic, czego nie obserwuje się u jałowic cielnich. Wzrost ten jest równoległy w czasie z obniżeniem osoczonego stężenia progesteronu i wzrostem poziomu estradiolu (35). U jałowic cielnich przejściowy wzrost w unaczynieniu ipsilateralnego rogu nie był wykrywalny przed 18. dniem, pomimo że między 13. a 17. dniem notowano krótkotrwały wzrost przepływu krwi w tętnicy zaopatrującej róg ipsilateralny. Unaczynienie *endometrium* w ipsilateralnym rogu macicy wzrastało dopiero między 18. a 20. dniem. Dzień 20. uznawany jest za początek adhezji pomiędzy kosmówką a macicą. Wzrost unaczynienia w kontralateralnym rogu macicy między 18. a 22. dniem był słaby. Zdecydowanie większy rejestrowano dopiero po 32. dniu ciąży. Trzydziesty drugi dzień ciąży uznawany jest za dzień penetracji owodniokosmówki do kontralateralnego rogu macicy. W dniu 42. wskaźniki unaczynienia były podobne w obu rogach macicy, a owodniokosmówka wypełniała oba rogi. W 42.-60. dniu, kiedy w ipsilateralnym rogu stwierdza się obecność placentomów, unaczynienie tego rogu pozostawało wzmożone, natomiast obniżało się w rogu kontralateralnym. Badania te pozwoliły potwierdzić hipotezę, że za perfuzję naczyń krwionośnych w obu rogach macicy podczas wczesnej ciąży odpowiada bezpośredni kontakt pomiędzy zarodkiem a macicą.

W innych badaniach oceniano wielkości przepływu krwi (blond flow volume – BFV) w drugiej połowie ciąży u krów mlecznych. Badania prowadzono w 21., 25., 29., 33., 37. i 39. tygodniu ciąży. Krowy podzielono w zależności od masy ciała na lekkie (≤ 575 kg) i ciężkie (> 575 kg). Podobnie za lekkie i ciężkie uznawano cielęta o masie ciała, odpowiednio, ≤ 42 i > 42 kg. BFV mierzono przy pomocy transrektalnej dopplerow-

skiej sonografii obu tętnic macicznych. Podczas okresu obserwacji stwierdzono liniowy wzrost macicznego BFV z 3053 ± 1143 ml/min. do 16912 ± 5793 ml/min. Istniała umiarkowana korelacja pomiędzy macicznym BFV między 21. a 37. tygodniem ciąży a masą urodzeniową cieląt oraz wysoka korelacja w 39. tygodniu ciąży. Maciczny BFV w 21. tygodniu ciąży był istotnie wyższy u ciężkich niż lekkich krów (3394 ± 1119 ml/min. wobec 2658 ± 1064 ml/min.). W porównaniu do lekkich krów, wzrost macicznego BFV był podczas całego okresu doświadczenia o 32% wyższy u ciężkich krów. W 21. tygodniu ciąży nie stwierdzono różnic w macicznym BFV pomiędzy krowami będącymi w ciąży z dużymi i małymi cielętami. Wzrost BFV był o 43% wyższy u krów rodzących ciężkie cielęta niż lekkie. Jednocześnie krowy z różną masą ciała, ale taką samą masą urodzeniową cieląt nie wykazywały różnic pod względem wzrostu macicznego BFV, podczas gdy u krów o takiej samej masie ciała wzrost BFV był wyższy u samic rodzących cielęta cięższe niż lżejsze. Stwierdzono liniowy wzrost w macicznym BFV u krów w laktacji podczas drugiej połowy ciąży z wyraźnie zaznaczoną zmiennością indywidualną. Zróżnicowanie w dynamice wzrostu (rise) BFV było w większym stopniu powodowane przez płód niż masą ciała krowy (17). Pole powierzchni przepływu krwi w ciałku żółtym było wyższe u krów cielnych niż niecielnych i niekrytych w 15. ($2,50 \pm 0,16$, $2,01 \pm 0,16$, i $2,00 \pm 0,18$ cm², odpowiednio) i 18. dniu ($2,40 \pm 0,19$, $1,45 \pm 0,19$, i $0,95 \pm 0,21$ cm²) po rui. U krów z grożącą wczesną śmiertelnością zarodkową pole powierzchni przepływu krwi wynosiło w 15. i 18. dniu ciąży, odpowiednio, $2,00 \pm 0,34$ i $2,05 \pm 0,39$ cm² i było mniejsze niż u krów cielnych, większe jednak niż u niecielnych. Pomimo różnic pomiędzy krowami cielnymi i niecielnym z powodu znacznych indywidualnych różnic wielkość przepływu krwi w ciałku żółtym nie jest dobrym wskaźnikiem diagnostycznym aktualnego statusu ciąży (16). Dopływ krwi do ciałka żółtego (blood flow) w 10. dniu po inseminacji wykazywał wyższą prędkość średnią w czasie (time average medium velocity – TAMV) i niższy indeks oporowy (PI) u ciężarnych bawolic w porównaniu do niecielnych. Ujemną korelację obserwowano pomiędzy średnicą ciałka żółtego a indeksem oporowym (RI) i indeksem pulsacji (PI), koncentracją P4 i RI oraz RI a ciążą. Dodatnią korelację notowano między obecnością ciąży a wielkością ciałka żółtego, a także średnicą ciałka żółtego między 5. i 10. dniem po inseminacji oraz polem ciałka żółtego a stężeniem progesteronu. W oparciu o te badania ustalono, że okres pomiędzy 5. a 10. dniem po inseminacji jest bardzo ważny dla rozwoju ciałka żółtego i kluczowy dla rozwoju ciąży. W konsekwencji ocena parametrów ciałka żółtego między 5. a 10. dniem po inseminacji może być wartościowym wskaźnikiem prawdopodobieństwa istnienia ciąży (38).

Ponieważ wzrost łożyska i jego unaczynienie poprzedzają wykładniczy wzrost płodu, ważne jest nie

tylko właściwe ułożyskowanie, ale również plastyczne zmiany funkcji łożyska podczas ciąży. Niewłaściwe środowisko matczyne podczas ciąży może zmieniać przebieg organogenezy oraz wzrost płodu, powodując upośledzenie rozwoju postnatalnego potomstwa. Regulacja i czas trwania ograniczeń w odżywianiu matczynym wydaje się oddziaływać na rozwój włósniczek, profil angiogeniczny i funkcjonowanie naczyń krwionośnych łożyska u przeżuwaczy. W środowisku, w którym dochodzi do naruszenia wzrostu i organogenezy, niektóre leki mogą zwiększać objętość transportowanych środków odżywczych i poprawiać rozwój płodu. Podawanie specyficznych białek i suplementów hormonalnych, takich jak indolamina, podczas czasu restrykcji żywnościowej może sprzyjać funkcji łożyska. Obecnie użycie techniki kolorowej ultrasonografii dopplerowskiej pozwala na wielokrotne pomiary przepływu krwi w pępowninie, włączając ocenę hemodynamiki łożyskowo-macicznej. Te zmienne mogą być sukcesywnie monitorowane w połączeniu z rozwojem płodu i łożyska w krytycznych okresach ciąży (39). Stałe monitorowanie akcji serca płodu (continuous fetal heart rate – FHR) przy użyciu transabdominalnej sonografii dopplerowskiej może być wykorzystane w przyszłości do uzyskania informacji o żywotności płodu w ostatnim trymestrze ciąży i jego niewłaściwej kondycji. Spoczynkowa częstość akcji serca płodu obniża się z 114 w trzecim do 109 uderzeń w drugim tygodniu przed narodzeniem, pozostając od tego momentu na niezmiennym poziomie aż do porodu.

Wielkość przepływu krwi przez ciałko żółte może być także wczesnym markerem ciąży u bioreczny zarodków oraz jej utraty (18, 37). U bioreczny w 3–4-dniowych odstępach pomiędzy dniem transferu a 33. dniem ciąży kontrolowano poziom progesteronu we krwi oraz dokonywano krótkich sentencji filmowych ciałek żółtych. Spadek poziomu progesteronu w tych dniach poniżej 1 ng/ml traktowano jako wczesną stratę zarodka. Za późną stratę zarodka przyjmowano brak obecności struktur zarodka w 26., 33. i 40. dniu po rui. Pierwszy wykrywalny wzrost przepływu krwi w ciałku żółtym, sugerujący wczesną śmierć zarodkową notowano w 17., 19. i 21. dniu i był on skorelowany z poziomem progesteronu. O ile śmierć zarodka następowała później, przepływ krwi w ciałku żółtym w wymienionych wyżej dniach nie ulegał zwiększeniu. Badanie wielkości przepływu krwi w ciałku żółtym oceniane około 3. tygodnia po zapłodnieniu z powodu niskiej specyficzności i czułości (porównania między 6 lekarzami) nie nadaje się jednak do wykrywania wczesnej ciąży u krów.

Badanie macicy po porodzie

Z niektórych badań wynika, że technika transrektalnego kolorowego Dopplera tętnic macicznych może być użyteczną metodą oceny zmian zachodzących w macicy podczas pierwszych 12 tygodni po wyciele-

niu. W cotygodniowych badaniach prowadzonych na krowach wieloródkach od dnia porodu do 56. i dodatkowo w 86. dniu po porodzie ustalono, że wielkość przepływu krwi (BFV) obniżała się stopniowo między 1. a 7. dniem po wycieleniu z 4312 ml/min. do 1443 ml/min. i dalej stopniowo do 230 ml/min. w 28. dniu po porodzie, w którym następowało zakończenie involucji macicy. Od tego momentu nie notowano istotnych zmian w BFV aż do zakończenia badań. Indeks pulsacyjny (PI) tętnic macicznych wzrastał z 1,54 w dniu 1., osiągając 5,56 w 28. dniu i obniżał się liniowo do 3,13 w dniu 86. Wyraźne zmiany wielkości przepływu krwi w macicy są stwierdzane wyłącznie podczas pierwszych 4 tygodni po wycieleniu. Z kolei PI może być przydatny w badaniach nad zmianami perfuzji macicy podczas następnych 8 tygodni po wycieleniu (24). Badania powyższe wykazały, że transrektalna technika kolorowego Dopplera (TCDS) jest dodatkowym, wartościowym sposobem pomiaru zmian w obrębie macicy u krów w pierwszych 12 tygodniach po porodzie.

Patologie macicy

Kolorową ultrasonografię dopplerowską wykorzystywano także w niektórych stanach patologii narządu rodowego, kontrolując przepływy krwi w naczyniach macicznych i jajnikowych u krowy z prawostronną aplazją rogu macicy. Ustalono, że w pierwszym cyklu rujowym CL formujące się na prawym jajniku nie ulegało regresji. Nie dochodziło także do owulacji następującej z prawego jajnika. Podczas kolejnego, drugiego cyklu rujowego CL tworzące się na lewym jajniku ulegało opóźnionej regresji, po której dochodziło do owulacji. Objętość krwi docierająca tętnicą do prawego rogu macicy była niższa od dopływającej do lewego jej rogu w obu obserwowanych cyklach rujowych. Ilość krwi w prawej i lewej tętnicy jajnikowej natomiast nie ulegała zmianie mimo aplazji rogu i zależała bardziej od obecności CL. Badania te wykazały, że przepływ krwi w prawej tętnicy macicznej był bardzo słaby oraz że aplazja jednego rogu macicy wpływała na przebieg cyklu rujowego, w szczególności regresję ciała żółtego (4).

Manipulacje na macicy

Powszechnie wiadomo, że manipulacje w obrębie macicy mogą powodować lokalny wzrost przepływu krwi w efekcie fizycznej stymulacji lub uszkodzeń tkanki oraz zapalenia. Korzystając z kolorowej ultrasonografii dopplerowskiej wykazano, że wypłukiwanie jednego rogu macicy w 6. dniu po inseminacji powoduje porównywalny wzrost perfuzji naczyń w obu rogach macicy. Wzrost przepływu krwi jest przemijający i ustępuje w ciągu 6 godzin po zabiegu. Nie stwierdzono natomiast wpływu jednostronnej manipulacji na rogu macicznym, liczby godzin po zabiegu oraz interakcji tych czynników na zmiany grubości *endometrium* (5).

Podsumowanie

Wraz z postępującymi miniaturyzacją i spadkiem ceny kolorowych ultrasonografów dopplerowskich, precyzyjna ocena unaczynienia struktur funkcjonalnych jajników, a także wielkości przepływu krwi i ukrwienia narządu rodowego u samic będą coraz chętniej wykorzystywane w praktyce weterynaryjnej jako komplementarne i nowoczesne źródło wiedzy, a także sposób monitorowania cyklicznej funkcji pęcherzyków jajnikowych, oceny aktywności ciała żółtego i rodzaju torbieli jajnikowych. Równocześnie technika ta umożliwiać będzie w bardziej precyzyjny sposób ocenę efektów terapii hormonalnej. Zmiany w ukrwieniu macicy mogą być wykorzystywane z jednej strony do oceny jej involucji po porodzie, z drugiej – zmienione ukrwienie ścian narządu może być wskaźnikiem prawidłowości rozwoju ciąży lub metodą wykrywania jej strat.

Piśmiennictwo

1. Acosta T. J.: Studies of follicular vascularity associated with follicle selection and ovulation in cattle. *J. Reprod. Dev.* 2007, 53, 39-44.
2. Acosta T. J., Hayashi K. G., Matusi M., Miyamoto A.: Changes in follicular vascularity during the first follicular wave in lactating cows. *J. Reprod. Dev.* 2005, 51, 273-280.
3. Acosta T. J., Yoshizawa N., Ohtani M., Miyamoto A.: Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin $F_{2\alpha}$ injection in the cow. *Biol. Reprod.* 2002, 66, 651-658.
4. Ando T., Kamimura S., Hamana K., Ohtsuka H., Watanabe D.: Uterine and ovarian blood flow in a Holstein Friesian cow with aplasia of one uterine horn. *J. Vet. Med. Sci.* 2007, 69, 429-432.
5. Araújo E. R., Pugliesi G., Scolari S. C., Mesquita F. S., Binelli M.: Influence of low-volume uterine flushing on uterine vascular perfusion and endometrial thickness during early dioestrus in beef cattle. *Reprod. Fert.* 2012, 25, 203-204.
6. Bartolome J. A., Sozzi A., McHale J., Melendez P., Arceche A. C., Silvestre F. T., Kelbert D., Swift K., Archbald L. F., Thatcher W. W.: Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows, II: assigning protocols according to stages of the estrus cycle, or presence of ovarian cysts or anestrus. *Theriogenology* 2005, 63, 1628-1642.
7. Bollwein H., Lüttgenau J., Herzog K.: Bovine luteal blood flow: basic mechanism and clinical relevance. *Reprod. Fert.* 2012, 25, 71-79.
8. Bollwein H., Schulze J. J., Miyamoto A., Sieme H.: Testicular blood flow and plasma concentrations of testosterone and total estrogen in the stallion after the administration of human chorionic gonadotropin. *J. Reprod. Dev.* 2008, 54, 335-339.
9. Breukelman S., Mulder E. J., vanOord R., Jonker H., van der Weijden B. C., TaverneM. A.: Continuous fetal heart rate monitoring during late gestation in cattle by means of Doppler ultrasonography: reference values obtained by computer-assisted analysis. *Theriogenology* 2006, 65, 486-498.
10. DesCôteaux L., Gnemmi G., Colloton J.: Ultrasonography of the bovine female genital tract. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2009, 25, 733-752.
11. Farin P. W., Youngquist R. S., Parfet J. R., Garverick H. A.: Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts by palpation per rectum and linear-array ultrasonography in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1992, 200, 1085-1089.
12. Ford S. P., Chenault J. R.: Blood flow to the corpus luteum-bearing ovary and ipsilateral uterine horn of cows during the oestrous cycle and early pregnancy. *J. Reprod. Fert.* 1981, 62, 555-562.
13. Garcia-Ispuerto I., López-Gatiús F.: Effects of GnRH or progesterone treatment on day 5 post-AI on plasma progesterone, luteal blood flow and leucocyte counts during the luteal phase in dairy cows. *Domest. Anim.* 2012, 47, 224-229.
14. Hamilton S. A., Garberick H. K., Kiesler D. H., Xu Z. Z., Loos K., Youngquist R. S., Salfen B. E.: Characterization of ovarian follicular cysts and associated endocrine profiles in dairy cows. *Biol. Reprod.* 1995, 53, 890-898.
15. Herzog K., Bollwein H.: Application of Doppler ultrasonography in cattle reproduction. *Reprod. Domest. Anim.* 2007, 42 Suppl. 2, 51-58.

16. Herzog K., Brockhan-Lüdemann M., Kaske M., Beindorff N., Paul V., Niemann H., Bollwein H.: Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. *Theriogenology* 2010, 73, 691-697.
17. Herzog K., Koerte J., Flachowsky G., Bollwein H.: Variability of uterine blood flow in lactating cows during the second half of gestation. *Theriogenology* 2011, 75, 1688-1694.
18. Herzog K., Voss C., Kastelič J. P., Beindorff N., Paul V., Niemann H., Bollwein H.: Luteal blood flow increases during the first three weeks of pregnancy in lactating dairy cows. *Theriogenology* 2011, 75, 549-554.
19. Honnens A., Niemann H., Paul V., Meyer H. H., Bollwein H.: Doppler sonography of the uterine arteries during a superovulatory regime in cattle. Uterine blood flow in superovulated cattle. *Theriogenology* 2008, 70, 859-867.
20. Jordan A., Herzog K., Ulbrich S. E., Beindorff N., Honnes A., Kruger L., Miyamoto A., Bollwein H.: Genital blood flow and endometrial gene expression during the preovulatory period after prostaglandin F₂α-induced luteolysis in different luteal phases in cows. *J. Reprod. Dev.* 2009, 55, 309-315.
21. Kastelič J. P., Brito L. F.: Ultrasonography for monitoring reproductive function in the bull. *Reprod. Domest. Anim.* 2012, 47 Suppl. 3, 45-51.
22. Kawashima C., Fukihara S., Maeda M., Kanenko E., Montoya C. A., Matusi M., Shimizu T., Matsunaga N., Kida K., Miyake T., Schams D., Miyamoto A.: Relationship between metabolic changes hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-producing dairy cows. *Reproduction* 2007 133, 155-163.
23. Kim K. D., Ki K. S., Kang H. G., Kim I. H.: Risk factors and the economic impact of ovarian cysts on reproductive performance of dairy cows in Korea. *J. Reprod. Dev.* 2005, 51, 491-498.
24. Krueger L., Koerte J., Tsousis G., Herzog K., Flachowsky G., Bollwein H.: Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during the first 12 weeks after parturition in healthy dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2009, 114, 23-31.
25. Lopez-Gatiús F., Santolaria P., Yaniz J., Fench M., Lopez-Bejar M.: Risk factors for postpartum ovarian cysts and their spontaneous recovery or persistence in lactating dairy cows. *Theriogenology* 2002, 58, 1623-1632.
26. Malek G. (red.): *Ultrasonografia dopplerowska*. Medipage, Warszawa 2003.
27. Martinoli C., Derchi L. E., Rizzatto G., Solbiati L.: Power Doppler sonography: general principles, clinical applications, and future prospects. *Eur. Radiol.* 1988, 8, 1224-1235.
28. Matusi M., Miyamoto A.: Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: practical use for reproductive management in the cow. *Vet. J.* 2009, 181, 232-240.
29. Miyamoto A., Shirasuna K., Hayashi K. G., Kamada D., Awashima C., Kanenko E., Acosta T. J., Matusi M.: A potential use of color ultrasound as a tool for reproductive management: New observation using color ultrasound scanning that were not possible with imaging only in black and white. *J. Reprod. Dev.* 2006, 52, 153-160.
30. Miyazaki T., Tanaka M., Miyakoshi K., Minegishi K., Kasai K., Yoshimura Y.: Power and colour Doppler ultrasonography for the evaluation of the vasculature of the human corpus luteum. *Human Reprod.* 1998, 13, 2836-2841.
31. Pugliesi G., Pinaffi F. L., Beg M. A., Ginther O. J.: Use of corpus luteum area as a predictor of ongoing functional luteolysis in dairy heifers. *Reprod. Fertil. Dev.* 2012, 25, 235.
32. Rauch A., Krüger L., Miyamoto A., Bollwein H.: Colour Doppler sonography of cystic ovarian follicles in cows. *J. Reprod. Dev.* 2008, 54, 447-453.
33. Rizzo A., Minoia G., Trisolini C., Mutinati M., Spedicato M., Manca R., Sciorsci R. L.: Renin and ovarian vascularization in cows with follicular cysts after epidural administration of a GnRH analogue. *Anim. Reprod. Sci.* 2009, 116, 226-232.
34. Shrestha H. K., Beg M. A., Imam S., Ginther O. J.: Luteal blood flow and concentrations of circulating progesterone and other hormones associated with a simulated pulse of 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F₂α in heifers. *Reproduction* 2010, 139, 673-683.
35. Silva L. A., Ginther O. J.: Local effect of the conceptus on uterine vascular perfusion during early pregnancy in heifers. *Reproduction* 2010, 139, 453-463.
36. Silvia W. J., Hatler T. B., Nugent A. M., da Fonseca L. F. L.: Ovarian follicular cysts in dairy cows: An abnormality in folliculogenesis. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2002, 23, 167-177.
37. Utt M. D., Johnson G. L. 3rd, Beal W. E.: The evaluation of corpus luteum blood flow using color-flow Doppler ultrasound for early pregnancy diagnosis in bovine embryo recipients. *Theriogenology*. 2009, 71, 707-715.
38. Vecchio D., Neglia G., Gasparrini B., Russo M., Pacelli C., Prandi A., D'Occhio M. J., Campanile G.: Corpus luteum development and function and relationship to pregnancy during the breeding season in the Mediterranean buffalo. *Theriogenology* 2012, 77, 1811-1815.
39. Vonnahme K. A., Lemley C. O.: Programming the offspring through altered uteroplacental hemodynamics: how maternal environment impacts uterine and umbilical blood flow in cattle, sheep and pigs. *Reprod. Fertil. Dev.* 2011, 24, 97-104.

Adres autora: prof. dr hab. Jędrzej M. Jaśkowski, ul. Azaliowa 23, 62-002 Złotniki; email: jasko@up.poznan.pl