

Praktyczne aspekty ultrasonografii dopplerowskiej w rozrodzie bydła

**Aleksandra Żuraw¹, Ewa Stańczyk², Jan Twardoń², Wiktor Ratajczak¹,
Wojciech Nizański²**

z Lecznicy dla Zwierząt „Vikravet” w Zbąszynku¹ oraz Katedry Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich Wydziału Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu²

W latach osiemdziesiątych ubiegłego stulecia pierwszy raz zastosowano ultrasonografię do badania jajników i macicy zwierząt domowych, a w latach dziewięćdziesiątych stała się ona rutynową metodą diagnostyczną w produkcji zwierzęcej (1,2).

U zwierząt gospodarskich, takich jak bydło, przezodbytnicze badanie ultrasonograficzne pozwala na bezpieczną i nieinwazyjną obserwację jajników i fizjologicznych oraz patologicznych struktur obecnych w ich mięszu. Za pomocą tej techniki możliwe jest badanie pęcherzyków jajnikowych,

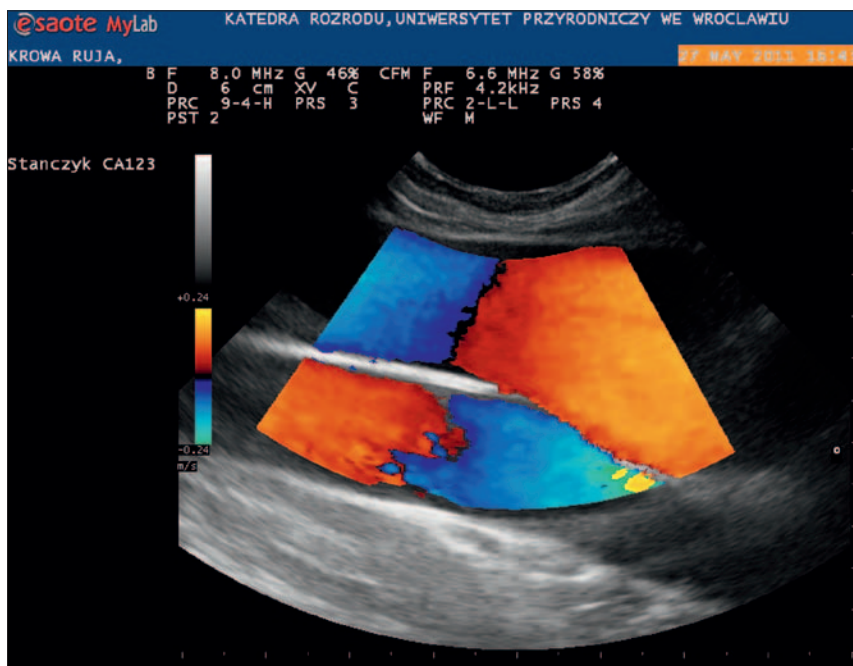
ciałka żółtego, torbieli jajników czy nowotworów oraz zmian, jakie w nich zachodzą, a także wykrywanie fal pęcherzykowych i owulacji (1, 2, 3). Ultrasonografia jest również kluczowym narzędziem w rozpoznawaniu wczesnej ciąży i wykrywaniu patologii macicy (4). Tradycyjne obrazowanie w skali szarości (tryb B-mode) pozwala na ocenę wielkości, kształtu oraz echostruktury badanego narządu lub tkanki, jednak metoda ta nie dostarcza informacji na temat ich funkcjonowania, takich jak np. unaczynienie. Badanie dopplerowskie pozwala na nieinwazyjne wykonanie

pomiarów przepływu krwi w macicy i jajnikach krów, co umożliwia określenie charakteru zmian zachodzących w perfuzji tych narządów podczas cyklu rujowego, ciąży i w okresie poporodowym (2). Informacje uzyskane podczas obserwacji fal pęcherzykowych i owulacji, w połączeniu z oceną jakości przepływów naczyniowych w pęcherzykach, przyczyniły się znacząco do zrozumienia fizjologii jajników oraz pomogły w opracowaniu kilku protokołów synchronizacji rui.

Obecnie ultrasonografia dopplerowska, która jest już integralną częścią diagnostyki obrazowej u zwierząt towarzyszących, zaczyna nabierać coraz większego praktycznego znaczenia w zakresie medycyny weterynaryjnej zwierząt gospodarskich.

Zasady i podstawowe techniki ultrasonografii dopplerowskiej

Fale ultradźwiękowe wykorzystywane w diagnostyce ultrasonograficznej są wytwarzane przez kryształy o właściwościach piezoelektrycznych. Efekt piezoelektryczny



Ryc. 1. Przepływ w aorcie i żyłe głównej doogonowej. W zależności od kąta insonacji kierunek przepływu krwi jest kodowany kolorem czerwonym lub niebieskim

polega na mechanicznej deformacji kryształu pod wpływem zewnętrznego pola elektrycznego. W wyniku drgań powierzchni przetwornika wypromieniowana zostaje fala akustyczna (5).

Obraz tworzony jest na podstawie ech, które powstają, gdy ultradźwięki ulegają odbiciu na granicy dwóch ośrodków różniących się impedancją akustyczną. Gdy fale ultradźwiękowe odbijają się od nieruchomych obiektów, ich częstotliwość nie ulega zmianie. Częstotliwość fali emitowanej jest równa częstotliwości fali powracającej do głowicy. Inaczej jest, gdy ultradźwięki odbijają się od ruchomych obiektów, takich jak krwinki czerwone. Częstotliwość fali rozproszonej różni się wtedy od częstotliwości fali nadawanej o wartość zwaną przesunięciem dopplerowskim. Przesunięcie dopplerowskie jest dodatnie, tzn. częstotliwość fal odbitych jest większa od częstotliwości fal nadawanych, gdy krwinki czerwone przesuwają się w kierunku głowicy. Natomiast, gdy ich ruch odbywa się w kierunku przeciwnym, częstotliwość fali rozproszonej jest mniejsza niż częstotliwość fali nadawanej i przesunięcie dopplerowskie jest ujemne.

Kolorowe kodowanie częstotliwości dopplerowskiej (color Doppler). W aparatach wyposażonych w opcję kolorowego Dopplera, sygnał powracający do głowicy z wybranego obszaru (część obrazu objęta tzw. oknem koloru), jest kodowany na ekranie monitora za pomocą kolorowych pikseli. Przesunięcia o znaku dodatnim (przepływ krwi w kierunku głowicy) są zwykle kodowane na czerwono, przesunięcia o znaku ujemnym, na niebiesko. Intensywność koloru zależy od prędkości

przepływu krwi – im jaśniejszy piksel, tym większa prędkość (ryc. 1).

Kodowanie mocy sygnału dopplerowskiego (Doppler mocy, power Doppler; (1, 5). Doppler mocy jest nowszą i bardziej zaawansowaną metodą obrazowania przepływu krwi. Mierzy on moc sygnału, a nie przesunięcie, czyli liczbę czerwonych krwinek przesuujących się w naczyniu w jednostce czasu. Krwinki czerwone są widoczne jako kolorowe punkty nałożone na obraz w prezentacji B. W porównaniu z techniką kolorowego Dopplera, jest to metoda bardziej czuła, która pozwala na wykrycie wolniejszych przepływów, co więcej – kąt insonacji (kąt między wiązką ultradźwięków a naczyniem) ma niewielki wpływ na moc sygnału (1, 5).

Doppler fali ciągłej (CW Doppler, continuous wave Doppler): metoda polega na równoczesnej pracy dwóch kryształów piezoelektrycznych, z których jeden w sposób ciągły emituje, a drugi odbiera fale ultradźwiękowe (1, 5). Rejestrowany sygnał jest wypadkową wszystkich ech powstających na przebiegu wiązki ultradźwiękowej. Zaletą jest możliwość pomiaru bardzo wysokich prędkości, wadą brak możliwości wyboru głębokości pomiaru. Metoda ta stosowana jest głównie w kardiologii.

Doppler fali pulsacyjnej (pulsed wave Doppler, PW Doppler) pozwala na precyzyjny wybór głębokości badania – dzięki temu pomiar przepływu wykonywany jest w wybranym naczyniu (1, 5). W systemie PW Doppler ten sam kryształ piezoelektryczny odbiera i emituje sygnał. Ograniczeniem metody jest to, że wysyłanie i odbiór sygnałów odbywa się w sposób cykliczny. Żeby prawidłowo odtworzyć kształt fali,

Practical aspects of Doppler ultrasonography in cattle reproduction

Żuraw A.¹, Stańczyk E.², Twardoń J.², Ratajczak W.¹, Niżański W.², Veterinary Surgery „Vikravit” in Zbaszynek¹, Department of Reproduction with Farm Animal Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Sciences²

The purpose of this paper was to present and discuss the practical aspects of Doppler ultrasound in cattle reproduction. Techniques used in Doppler ultrasound examination are: color Doppler, power Doppler, continuous wave Doppler and pulse wave Doppler. The information obtained by Doppler ultrasound examination can be analyzed in three ways: a) by spectrum evaluation – wave shape evaluation, b) by blood flow indices (resistive indices) evaluation and c) by blood flow volume evaluation and direct velocity measurement. The main vessels providing blood to the cow uterus are uterine arteries, where in different phases of the reproductive cycle characteristic blood flow changes are observed. During the cycle, averaged mean velocity is highest in *proestrus* and *oestrus*. In the *dioestrus* blood flow velocity remains on a constant low level. During the pregnancy an exponential growth in the blood flow volume is observed. Until the eighth month of pregnancy there is a gradual decrease in resistive index. In cows with normal puerperium, the blood flow volume in uterine artery decreases immediately after the parturition and resistive index values start to increase only after 4 days. In cows with puerperium disorders there is a further 4 day delay in changes of these parameters. Based on the blood flow characteristics in ovary follicles their state of development can be evaluated. In cattle follicles develop in a wave-like form. Using color Doppler the quality of follicular waves can be estimated, which is important while preparing donor cows for embryo transfer. It is also possible to identify future dominant follicle and to predict the viability of a follicle after selection. In a mature follicle the blood flow increases rapidly and reaches its maximum before ovulation. No detectable blood flow and progressive decrease of their diameter are characteristics of follicles undergoing atresia. Doppler ultrasonography is also a very effective method of follicle and luteal cyst diagnosis and differentiation. *Corpus luteum* is one of the most vascularised organs in the body. The number of colour pixels visible in the color Doppler mode on the *corpus luteum* cross section is correlated with the peripheral blood progesterone changes, and the morphological changes visible in B-mode which *corpus luteum* undergoes throughout the reproductive cycle.

Keywords: Doppler techniques, cattle, reproduction.

częstotliwości wysyłanych impulsów (pulse repetition frequency – PRF), musi być dwa razy większa niż przesunięcie dopplerowskie (inaczej ich odczyt jest nieprawidłowy

– pojawiają się artefakty: aliasing), co ogranicza maksymalne wykrywane prędkości.

Metody oceny przepływu krwi

Informacje uzyskane na podstawie dopplerowskiego badania przepływu krwi mogą być analizowane na trzy sposoby, przez: 1) ocenę widma – ocenę kształtu fali, 2) ocenę indeksów przepływu (oporowych) oraz 3) ocenę objętości przepływu i pomiar prędkości bezwzględnych. Istnieją sytuacje, w których każdy z tych sposobów jest odpowiedni oraz takie, w których nie da się zastosować żadnego z nich. Dopplerowska ocena objętości przepływającej krwi (BFV) jest najbliższa rzeczywistości przepływowi krwi przez naczynie, jednak jest najtrudniejsza do wykonania. Poprawność pomiaru zależy od kąta insonacji, dokładności pomiaru średnicy naczynia, jego przebiegu (krętości naczynia) oraz mocy obliczeniowej aparatu. Indeksy przepływu opisują oporność obwodowego łożyska naczyniowego, ich wartość nie jest zależna od kąta insonacji, pośrednio pozwalają oszacować wartości przepływu. Wzrost wartości indeksów wskazuje na zmniejszony przepływ przez narząd zaopatrywany przez dane naczynie. Najczęściej stosowanymi indeksami są indeks oporowy (indeks Pourcelota, resistive index – RI) oraz indeks pulsacyjny (pulsatility index – PI). Indeks oporowy opisuje różnicę pomiędzy maksymalną prędkością skurczową (S, peak systolic velocity – PSV) a prędkością końcowo-rozkurczową (D, end-diastolic velocity – EDV), jest wyrażony wzorem: $RI = (PSV - EDV)/PSV$ (2,5). Pomiar tego

indeksu jest najlepszy dla naczyń o niskim oporze przepływu, w których występuje przepływ krwi w czasie rozkurczu. Gdy wartość D jest równa zero, wskaźnik jest zawsze równy 1. Indeks pulsacyjny jest wyrażony wzorem: $PI = (PSV - EDV)/TAMV$, gdzie TAMV (time-averaged mean velocity) jest prędkością średnią (5).

Badanie przepływu krwi w macicy

Głównym naczyniem zaopatrującym macicę krowy jest parzysta tętnica maciczna (*a. uterina*), która przebiega równolegle do trzonu macicy i daje gałązki zaopatrujące poszczególne części trzonu i rogów. Podczas kolejnych faz cyklu płciowego obserwuje się charakterystyczne zmiany przepływu krwi w tętnicach macicznych.

Technika badania

Punktem wyjścia do identyfikacji tętnicy macicznej jest obraz ultrasonograficzny aorty. Po zlokalizowaniu odchodzącej od niej tętnicy biodrowej wewnętrznej, śledząc jej przebieg, można zlokalizować szcztątkową tętnicę pępkową oraz tętnicę maciczną, której średnica w zależności od fazy cyklu, u nieciężarnych krow, które nigdy nie rodziły może osiągać do 5,0 mm (1). Podczas ciąży jej średnica wzrasta do 12 mm (6; *ryc.2*).

Przepływ krwi podczas cyklu

Badania krów przeprowadzone w różnych fazach cyklu rujowego, wykazały, że przepływ krwi w macicy odbywa się według

charakterystycznego wzoru, z najwyższymi średnimi wartościami prędkości przepływu (TAMV) w czasie *prooestrus* i *oestrus*. Podczas *dioestrus* prędkość przepływu krwi utrzymuje się na stałym, niskim poziomie (1).

W czasie ciąży obserwuje się wykładniczy wzrost objętości przepływającej krwi (blood flow volume – BFV), co jest odpowiedzią na szybko rosnące zapotrzebowanie płodu na tlen i składniki odżywcze. Stwierdzono również dodatni związek między objętością przepływającej przez macicę krwi a masą urodzeniową cieląt. Do 8 miesiąca ciąży obserwuje się także stopniowy spadek indeksu oporowego (RI), co jest związane z intensywnym rozwojem obwodowego łożyska naczyniowego. W późniejszym okresie, aż do porodu, utrzymuje się on na względnie stałym poziomie (1, 4).

Przepływ krwi podczas okresu poporodowego

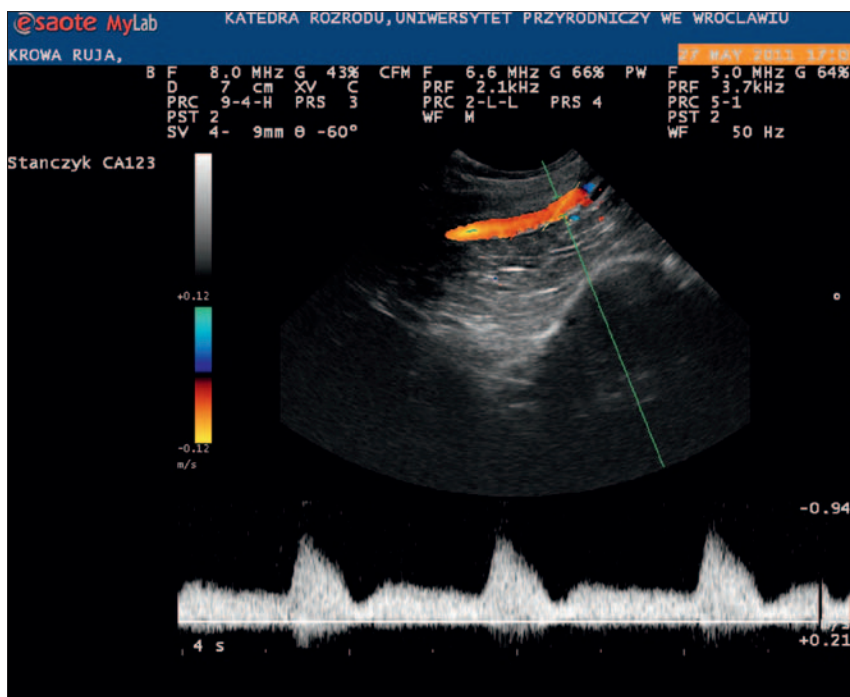
U krów, u których okres poporodowy ma prawidłowy przebieg, objętość przepływającej przez tętnicę maciczną krwi spada bezpośrednio po porodzie, natomiast wartości indeksu oporowego zaczynają wzrastać dopiero po 4 dniach. Uważa się, że inwolucja macicy w pierwszej kolejności zależna jest od skurczów włókien mięśniowych oraz związanym z tym uciskiem naczyń. Następnie, gdy kurczliwość *myometrium* spada, dochodzi do martwicy brodawek, spowodowanej niedokrwiem.

U krów, u których występują zaburzenia okresu poporodowego, objętość przepływającej krwi początkowo nie ulega zmniejszeniu; zmiany w przepływie krwi opóźnione są o około 4 dni. Badania wykazały, że BFV zaczynała spadać dopiero w 4 dniu po porodzie, natomiast indeks oporowy zaczął wzrastać w 8 dniu. Prawdopodobnym wytłumaczeniem tych zjawisk jest rozwój stanu zapalnego w macicy. Za większe ukrwienie może też być odpowiedzialny wzrost stężenia $PGF_{2\alpha}$, ponieważ u krów z poporodowym *endometritis* stwierdzono wysokie stężenia prostaglandyn o działaniu rozszerzającym naczynia krwionośne (1).

Przepływ krwi w jajnikach

Przezodbytnicze badanie ultrasonograficzne z zastosowaniem technik dopplerowskich znajduje zastosowanie także w ocenie przepływu krwi w jajnikach, szczególnie w ciałku żółtym i pęcherzykach jajnikowych.

Na podstawie charakteru przepływu krwi przez pęcherzyki jajnikowe można ocenić, w jakim są one stadium rozwoju.



Ryc. 2. Przepływ krwi przez tętnicę maciczną. Widoczny kodowany na czerwono przepływ krwi w kierunku głowicy. Poniżej widmo przepływu typowe dla naczyń niskooporowych

Dojrzewanie pęcherzyków jajnikowych

U krów pęcherzyki jajnikowe dojrzewają falami. W czasie cyklu występują zazwyczaj dwie lub trzy fale pęcherzykowe. Podczas każdej z nich ma miejsce rekrutacja – rozwój kilku pęcherzyków pod wpływem gonadotropin; selekcja – podczas której jeden lub dwa pęcherzyki są wybierane do dalszego rozwoju i dominacja, gdy szybko rozwija się jeden pęcherzyk, inne zaś ulegają supresji (7).

Ocena jakości fal pęcherzykowych pod kątem embriotransferu

Za pomocą kolorowego Dopplera można ocenić jakość fal pęcherzykowych, co jest istotne podczas przygotowywania krów dawczyń do embriotransferu. Fale, w których można uwidocznic przepływ naczyniowy dobrze odpowiadają na stosowane protokoły gonadotropinowe, mające na celu uzyskanie superowulacji lub superstymulacji (gdzie nie wywołuje się owulacji, a pęcherzyki pobierane są bezpośrednio z jajników; 8). Zaostrzenie w krew poszczególnych pęcherzyków zapewnia im większy dopływ gonadotropin i substancji odżywczych wspomagających ich wzrost i rozwój (9, 10). W dobie szybkiego rozwoju technik wspomaganego rozrodu kolorowy Doppler może okazać się metodą warunkującą powodzenie procedur.

Istnieje także możliwość identyfikacji przyszedłego pęcherzyka dominującego we wczesnej fazie jego rozwoju oraz możliwość przewidywania żywotności pęcherzyka po selekcji (3). Pęcherzyki małe, w których udaje się uwidocznic przepływ naczyniowy dzień przed selekcją pęcherzyków, osiągają następnie większe rozmiary niż pęcherzyki niewykazujące przepływów w tym czasie (2). W tej kwestii ultrasonografia w trybie B-Mode nie dostarcza odpowiednich informacji, natomiast technika kolorowego Dopplera pozwoliła na stwierdzenie, że wielkość pęcherzyka nie jest najważniejszym kryterium w badaniu jego rozwoju (3). Prawdopodobnie utrzymanie waskularyzacji oraz odpowiednie ukrwienie jest kluczowe dla uzyskania i podtrzymania dominacji pęcherzykowej, co jest istotne również w kontekście późniejszych zacieleń. Wykazano, że współczynnik oporności RI w pęcherzykach jałówek, które później zostały cielne w porównaniu z tymi, które nie zostały, był niższy, co świadczy o lepszej perfuzji tych pęcherzyków, która pozytywnie wpłynęła na ich żywotność i dalszy rozwój (11).

Owulacja

W dojrzałym pęcherzyku, na początku wyrzutu hormonu luteinizującego (LH)

przepływ krwi gwałtownie wzrasta i osiąga maksymalną wartość przed owulacją (9).

Atrezja pęcherzyka jajnikowego

Pęcherzyki w fazie atrezji charakteryzują się brakiem wykrywalnego przepływu krwi oraz postępującym zmniejszaniem się swojej średnicy (2; **ryc.3**).

Diagnostyka i różnicowanie torbieli jajnikowych

Ultrasonografia dopplerowska jest również efektywną metodą diagnozowania i różnicowania torbieli pęcherzykowych (ściana cienka) i lutealnych (ściana gruba), ponieważ przepływ krwi w ścianie pęcherzykowej znacznie lepiej obrazuje jej grubość niż standardowa ultrasonografia czarno-biała (10).

Przepływ krwi w ciałku żółtym

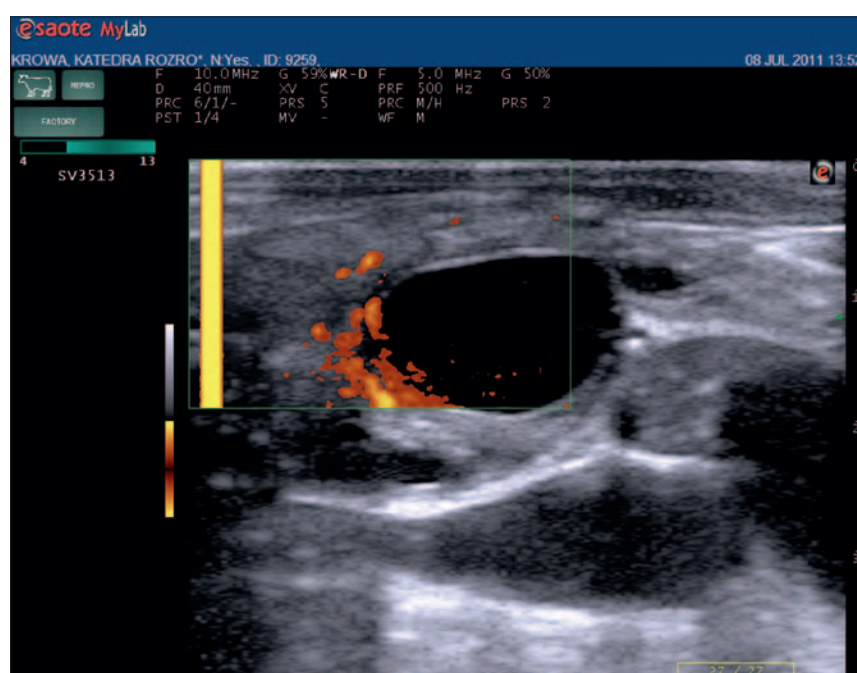
Ciałko żółte jest jednym z najlepiej unaczynionych narządów, a tempo przepływu krwi na jednostkę tkanki jest tu najwyższe ze wszystkich narządów (10). Ilość kolorowych pikseli widoczna w trybie kolorowego Dopplera na przekroju poprzecznym ciała żółtego, jest skorelowana ze zmianami stężenia progesteronu we krwi obwodowej oraz zmianami morfologicznymi ciała żółtego widocznymi w trybie B, zachodzącymi podczas cyklu. Zauważono związek między zmianami ukrwienia ciała żółtego a osoczowym stężeniem progesteronu: im lepsze ukrwienie ciała żółtego, tym większa produkcja progesteronu (1, 10).

Wyniki badań wskazują, że zmiany w obrazie ultrasonograficznym ciała żółtego, które można obserwować w trybie B, jak np. wielkość, echogeniczność, nie są tak wyraźne, jak zachodzące w nim zmiany fizjologiczne, takie jak przepływ krwi oraz produkcja progesteronu (1). Przeprowadzono również badania, z których wynika, że, aby doszło do luteolizy, konieczny jest chwilowy wzrost ilości przepływającej krwi, co z kolei wyklucza skurcz naczyń krwionośnych, jako pierwotną przyczynę lizy ciała żółtego u krów (1, 2, 9, 10).

Podsumowanie

Przezodbytnicza kolorowa ultrasonografia dopplerowska jest przydatną, nieinwazyjną techniką pozwalającą na ocenę przepływu krwi przez narząd rodny podczas różnych faz cyklu, ciąży i okresu poporodowego. Dostarcza także dodatkowych informacji na temat fizjologicznych i patologicznych procesów zachodzących w jajnikach i macicy, co może przyczynić się do rozwoju nowych metod leczenia zaburzeń w rozrodzie bydła. Metoda ta znacznie przyspiesza i polepsza wykrywalność zaburzeń płodności, co bezpośrednio przekłada się na zwiększenie korzyści ekonomicznych produkcji.

Kolorowy Doppler jest obecnie techniką stosowaną znacznie częściej u zwierząt towarzyszących, jednak w dobie szybkiego rozwoju technik wspomaganego rozrodu może stać się on niezbędnym narzędziem warunkującym powodzenie przeprowadzanych procedur także u zwierząt gospodarskich, dlatego konieczne są dalsze badania na ten temat.



Ryc. 3. Jajnik krowy. Widoczny duży pęcherzyk jajnikowy i naczynia krwionośne biegnące równoległe do ściany. Obrazowanie w trybie Dopplera mocy

Piśmiennictwo

1. Herzog K., Bollwein H.: Application of Doppler ultrasonography in cattle reproduction. *Reprod. Dom. Anim.* 2007, **42** (Suppl 2), 51-58.
2. Miyamoto A., Shirasuna K., Hayashi K., Kamada D., Kawashima C., Kaneko E., Acosta T. J., Matsui M.: A potential use of color ultrasound as a tool for reproductive management: new observations using color ultrasound scanning that were not possible with imaging only in black and white. *J. Reprod. Dev.* 2006, **52**, 153-160.
3. Acosta T. J., Hayashi K., Matsui M., Miyamoto A.: Changes in follicular vascularity during the first follicular wave in lactating cows. *J. Reprod. Dev.* 2005, **51**, 273-280.
4. Bollwein H., Baumgartner U., Stolla R.: Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during pregnancy. *Theriogenology* 2002, **57**, 2053-2061.
5. Małek G.: Ultrasonografia dopplerowska. *Zastosowania kliniczne*. T. 1, MediPage, Warszawa 2003, s. 13-21.
6. DesCôteaux L., Gnemmi G., Colloton J.: *Practical Atlas of Ruminant and Camelid Reproductive Ultrasonography*. Wiley – Blackwell, Ames, Iowa, USA 2010, s. 67.
7. Adams G.P., Jaiswal R., Singh J., Malhi P.: Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology* 2008, **69**, 72-80.
8. Aerts J.M.J., Bols P.E.J.: Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. *Reprod. Dom. Anim.* 2010, **45**, 180-187.
9. Acosta T. J., Miyamoto A.: Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. *Anim. Reprod. Sci.* 2004, **82**, 127-140.
10. Matsui 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.
11. Siddiqui M. A. R., Almamun M., Ginther O. J.: Blood flow in the wall of the preovulatory follicle and its relationship to pregnancy establishment in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 2009, **113**, 287-292.

Lek. wet. Aleksandra Żuraw, ul. Topolowa 20, 66-210 Zbąszynek, e-mail: olkazuraw@wp.pl