

Ecografía Doppler y su aplicación en reproducción bovina: revisión

Uxía Yáñez, Juan J. Becerra, Pedro G. Herradón, Ana I. Peña y Luis A. Quintela*

Reproducción y Obstetricia, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela. Campus Universitario, Avda. Carballo Calero s/n, 27002 Lugo, España

Resumen

La ultrasonografía en modo Doppler es una técnica que permite el estudio del flujo sanguíneo de los diferentes órganos y estructuras de manera no invasiva. Por ello, en el ámbito de la reproducción del ganado vacuno, ha sido de gran ayuda para identificar los cambios hemodinámicos que tienen lugar en el tracto genital durante el ciclo estral, la gestación y el post-parto. Empleando esta información, se han investigado las diferentes aplicaciones de esta herramienta a nivel de campo con el objetivo de optimizar el rendimiento de las explotaciones.

Así, entre sus usos se encuentra la posibilidad de predecir el momento de la ovulación y de estimar la fertilidad; además, permite la evaluación de la funcionalidad del cuerpo lúteo, de manera que, no solo resulta de utilidad a la hora de establecer protocolos de inducción/sincronización de celo, sino que también podría permitir la realización de un diagnóstico de "no gestación" más precoz. De igual modo, se ha estudiado su eficacia a la hora de predecir el éxito de los protocolos de superovulación y el número de embriones recolectados. Por último, esta técnica podría ser de interés para detectar lo antes posible patologías uterinas post-parto y diferenciar los tipos de quistes ováricos.

No obstante, no podemos olvidar que, actualmente, no ha demostrado ser suficientemente fiable de manera individual para la realización de ciertos procedimientos (por ejemplo, llevar a cabo un diagnóstico de gestación más temprano o valorar la fertilidad), aunque sí ha ofrecido resultados interesantes para continuar la investigación en este campo.

Palabras clave: Ultrasonografía, flujo sanguíneo, vacuno, genital.

Doppler Ultrasonography and its application in bovine reproduction: a review

Abstract

Doppler ultrasonography is a technique which allows the study of blood flow to different organs and structures in a non-invasive way. Therefore, in cattle reproduction, it has been of great help in identifying the hemodynamic changes that occur in the genital tract throughout the oestrous cycle, pregnancy, and post-partum. Taking this information into account, several applications of this tool were investigated at field conditions to optimise the efficiency of the farms.

* Autor para correspondencia: luisangel.quintela@usc.es

Cita del artículo: Yáñez U, Becerra JJ, Herradón PG, Peña AI, Quintela LA (2022). Ecografía Doppler y su aplicación en reproducción bovina: revisión. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 118(1): 82-100. <https://doi.org/10.12706/itea.2021.019>

In this way, among its applications it can be found the possibility of predicting the time of ovulation and estimating fertility; moreover, it allows the evaluation of the corpus luteum functionality, so that not only is it useful to establish heat inducement/synchronization protocols, but it may be also possible to perform an earlier “non-pregnancy” diagnosis. Additionally, its effectiveness in predicting the outcome of superovulation protocols and the number of collected embryos has been studied. Finally, this technique might be of interest to detect post-partum uterine diseases as soon as possible and identify the types of ovarian cysts.

Nevertheless, we cannot forget that, nowadays, Doppler ultrasonography has not proven to be accurate enough to conduct some procedures individually (such as performing an earlier pregnancy diagnosis or evaluate fertility), although it has offered interesting results to continue the research in this field.

Keywords: Ultrasonography, blood flow, cattle, genital.

Introducción

En las modernas explotaciones bovinas, donde los márgenes comerciales son cada vez más estrechos, la eficiencia reproductiva cobra especial importancia, puesto que de ella depende, en gran medida, la rentabilidad de las granjas. Con el objetivo de optimizar dicha rentabilidad, se deberían evaluar no solo la salud y el bienestar de los animales, sino también el estado de su tracto genital. Dicho examen se ha realizado durante muchos años mediante palpación transrectal; no obstante, a finales del siglo XX, debido a la creación de equipos de ultrasonido más compactos y fáciles de transportar, así como al establecimiento de un precio más accesible, la ecografía cobró fuerza como nueva técnica de diagnóstico a nivel de campo, demostrando ser más eficaz que su predecesora (Beal *et al.*, 1992).

Entre las múltiples ventajas que ofrece el examen ecográfico se encuentra la visualización de los ovarios y de las estructuras presentes en ellos, lo que ha hecho posible el seguimiento de la dinámica folicular. De igual modo, el diagnóstico de diversas patologías ováricas y uterinas como quistes, endometritis y piómetras es más sencillo mediante el empleo de esta técnica. Además, permite explorar el interior del útero, por lo que no solo se puede realizar un diagnóstico de gestación más precoz (el día 26 con más del 95 % de

sensibilidad, de acuerdo con Filteau y Des-Côteaux, 1998), sino que también facilita la detección de mortalidad embrionaria, la identificación de más de una cría y la determinación del sexo del feto.

A pesar de sus numerosas aplicaciones, la ecografía en blanco y negro no es capaz de proporcionar información acerca de ciertos aspectos relativos a la funcionalidad de los órganos como, por ejemplo, su vascularización. Para solventar esta limitación, existe el modo Doppler, una técnica complementaria que permite el estudio de la hemodinámica de las estructuras exploradas.

La ecografía en modo Doppler se basa en el fenómeno físico descrito en el siglo XIX por el austríaco Christian A. Doppler, el cual explica el cambio de frecuencia que tiene lugar en una onda cuando hay un desplazamiento entre la fuente emisora y la receptora. A este cambio de frecuencia se le conoce como frecuencia Doppler o “Doppler shift”. Si existe un acercamiento, las ondas son percibidas con mayor frecuencia, mientras que, al alejarse, esta será cada vez menor. En la práctica, la ecografía en modo Doppler se emplea para evaluar el flujo sanguíneo mediante el análisis del movimiento de los glóbulos rojos. Existen dos tipos de sistemas Doppler (Paolinelli, 2013):

- Doppler continuo: la señal es emitida y recibida al mismo tiempo por el transductor, por lo que se obtienen todos los flujos y movimientos a lo largo del haz. No determina la posición ni la profundidad del vaso, pero permite evaluar velocidades muy altas.
- Doppler pulsado: en este caso, la señal es emitida por el transductor, y esta debe regresar antes de que se envíe el próximo pulso. Permite concretar la posición del vaso en el espacio. Dentro del sistema pulsado, mediante la modificación de la frecuencia o de las velocidades podemos encontrar otros 3 modos:
 - Doppler espectral: muestra una curva basada en la velocidad y el tiempo, la cual representa la variación de la velocidad de los glóbulos rojos durante el ciclo cardíaco. La dirección de estos últimos se indica por el signo de la velocidad: valores positivos se aproximan al transductor, mientras que los negativos se alejan.
 - Doppler color (Figura 1A): codifica la velocidad media del flujo sanguíneo en colores, superponiéndola a la imagen obtenida en modo B. El color muestra la dirección del flujo y, cuanto más brillante sea, mayor será la velocidad.
 - Doppler potencia (Figura 1B): se relaciona con el número de hematíes, no con su velocidad. Su sensibilidad es 2-5 veces mayor que la del Doppler color, por lo que permite evaluar vasos de menor diámetro o con flujo más lento (Ginther, 2007).

En el ámbito de la reproducción bovina, la evaluación de la vascularización del tracto genital, que en sus inicios se realizaba mediante procedimientos invasivos (Ford *et al.*, 1979), se puede llevar a cabo con el empleo del modo Doppler durante un examen transrectal rutinario, gracias a su incorporación a los equipos de ultrasonografía. De esta manera, es posible estudiar los cambios que tienen lugar en el

flujo vascular a lo largo del ciclo estral y de la gestación (Herzog y Bollwein, 2007).

Teniendo en consideración la información descrita anteriormente, el objetivo de este trabajo ha sido realizar una revisión sobre las variaciones del flujo sanguíneo que ocurren en el aparato genital de las hembras bovinas durante las diferentes fases del ciclo estral, la gestación y el período post-parto; así mismo, se ha profundizado en las aplicaciones del modo Doppler para el control reproductivo del ganado vacuno.

Variaciones del flujo sanguíneo

Ovarios

El desarrollo folicular en la especie bovina tiene lugar en forma de oleadas. La mayoría de los ciclos se componen de dos o tres oleadas y, en ambos casos, la primera da comienzo el día de la ovulación. Dicho inicio se caracteriza por el crecimiento de 8-41 pequeños folículos (Adams, 1999), los cuales evolucionan a un ritmo similar durante dos días, hasta que uno de ellos es seleccionado para continuar su desarrollo (folículo dominante), mientras los restantes sufren atresia (folículos subordinados). En un ambiente con una elevada concentración de progesterona, los folículos dominantes de las diferentes oleadas regresan. Por el contrario, al desencadenarse la luteolisis y, consecuentemente, disminuir los niveles de esta hormona, el folículo dominante presente se convierte en folículo preovulatorio.

A lo largo del desarrollo folicular, se forma un extenso plexo vascular en las células de la teca (O'Shea *et al.*, 1978). Este incremento del aporte sanguíneo es más notable en los folículos dominantes que en los folículos subordinados (Figura 2), por lo que se ha convertido en su principal diferencia histológica (Jiang *et al.*, 2003). Por esta razón, la relación

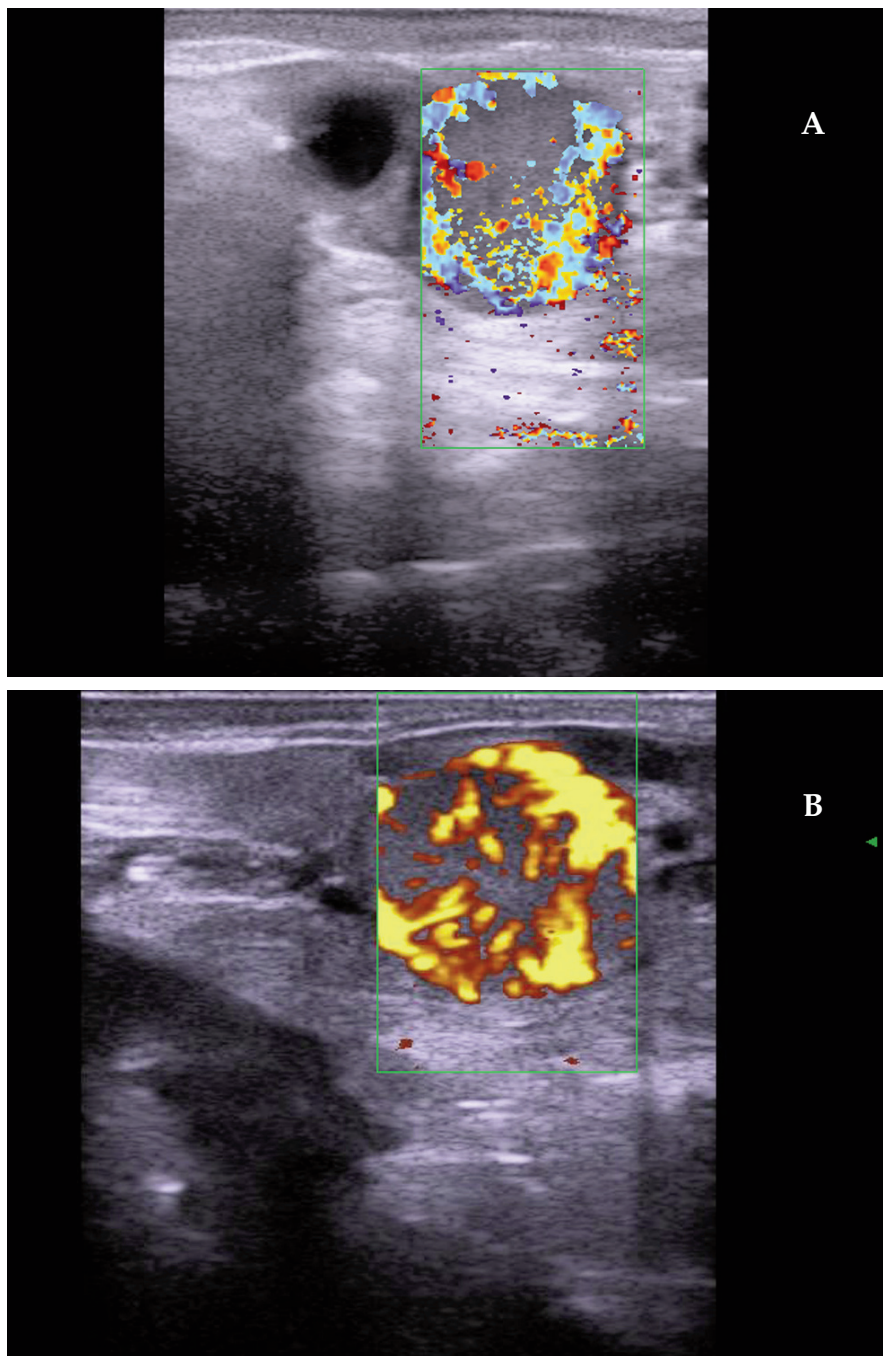


Figura 1. Imagen de un examen ecográfico del cuerpo lúteo con Doppler color (A) y Doppler potencia (B).

Figure 1. Picture of an ultrasonographic examination of the corpus luteum with colour Doppler (A) and power Doppler (B).

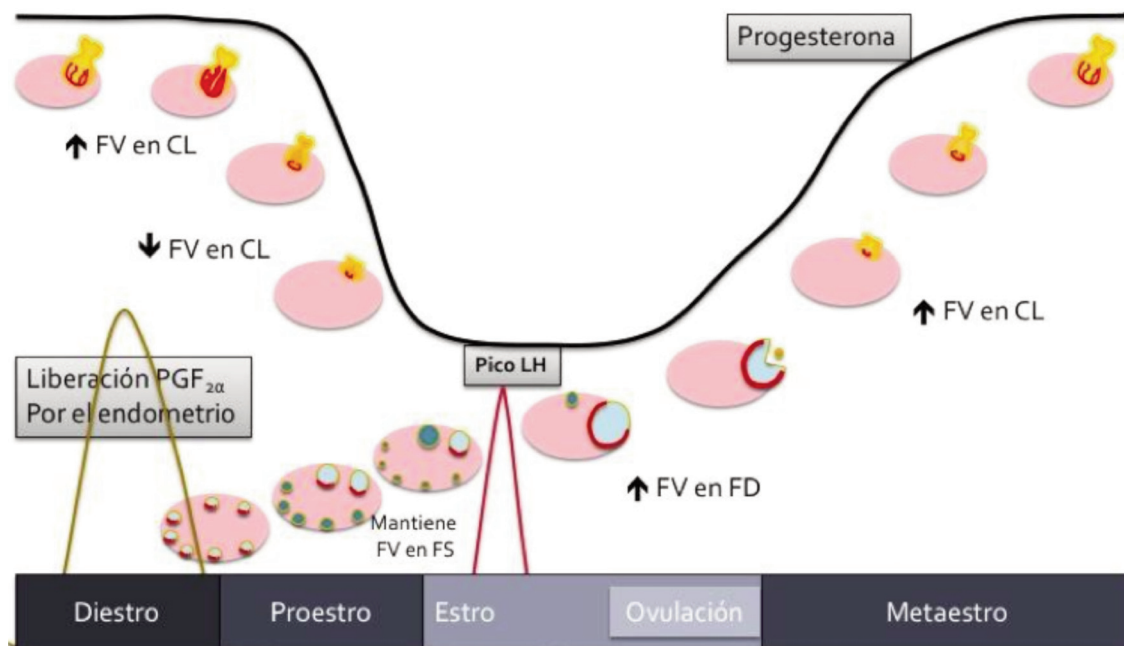


Figura 2. Cambios en el flujo sanguíneo en el ovario durante el ciclo estral en ganado bovino. Modificado de Matsui y Miyamoto (2009).

Figure 2. Changes in ovarian blood flow during the oestrous cycle in cattle. Modified from Matsui and Miyamoto (2009).

existente entre el diámetro folicular y la vascularización juega un papel fundamental en los procesos de selección y ovulación en el ganado bovino (Acosta, 2007). Por lo tanto, mediante el estudio de la naturaleza y de los mecanismos de selección de los folículos podría ser posible mejorar ciertos procedimientos, tales como la superovulación y la recolección de ovocitos para transferencia de embriones, entre otros (Ginther *et al.*, 2019).

Como se ha comentado en el párrafo anterior, el flujo sanguíneo y el tamaño de los folículos están íntimamente relacionados; no obstante, se ha descubierto que es el flujo sanguíneo el que primero establece una diferencia entre ambos tipos de folículos. En el año 2019, Ginther *et al.* comprobaron, mediante la realización de un examen ecográfico cada 8 horas, que esta desigualdad en la

vascularización tiene lugar 16 horas antes. Por otro lado, tanto el área ocupada por el flujo sanguíneo, como su velocidad (medida en la base del folículo), están temporalmente asociadas con el incremento de la concentración en plasma de estradiol y el pico de LH (Acosta *et al.*, 2003), aumentando su intensidad a medida que se acerca el momento de la ovulación (Satheshkumar, 2018). Por consiguiente, la irrigación de los folículos podría ser de utilidad para distinguir de manera precoz cuál será el futuro folículo dominante e incluso podría ayudar a predecir el momento de la ovulación.

Por otro lado, Brännström *et al.* (1998) observaron que el aporte sanguíneo es mayor en la base del folículo que en el ápex, lo que facilita la ruptura del folículo. Durante la ovulación, el folículo colapsa, liberando el

ovocito y el fluido del antro. Además, se produce la pérdida de la membrana basal y se desarrolla una nueva red de vasos sanguíneos a partir de la vascularización de las células de la teca. Este período de intensa angiogénesis continúa durante el desarrollo del cuerpo lúteo (Acosta et al., 2003).

Así mismo, el cuerpo lúteo va experimentando a lo largo de su vida variaciones en cuanto a su volumen e irrigación (Figura 2). Primeramente, tiene lugar un incremento de ambos parámetros, directamente relacionado con la capacidad para producir y liberar progesterona (Acosta et al., 2003). Es importante destacar que este cuerpo lúteo joven no es sensible a la Prostaglandina F_{2a} (PGF_{2α}), de modo que, aunque se administrase de manera exógena, no se produciría la luteolisis y tanto su volumen como la concentración de progesterona continuarían aumentando (Acosta et al., 2002).

Por el contrario, cuando nos encontramos en mitad de ciclo (día 10), el cuerpo lúteo sí responde a la PGF_{2α}, por lo que, tras la administración de una dosis luteolítica se aprecia un incremento agudo en el flujo sanguíneo (Acosta et al., 2002). Este aumento se produce durante las 2 horas posteriores a la inyección y se limita a la vascularización periférica, cuyas arteriolas presuntamente están formadas por capas de músculo liso y, por lo tanto, son capaces de sufrir vasodilatación y vasoconstricción (Miyamoto et al., 2005). Este mismo incremento se observa durante la luteolisis espontánea. Así, el flujo sanguíneo se intensifica los días 17-18 del ciclo, seguido de una disminución en la concentración de progesterona un día más tarde (Shirasuna et al., 2004a).

Es probable que, efectivamente, este fenómeno se deba a la acción de la PGF_{2α}. Una posible explicación es que la liberación de esta hormona desde el útero estimule la producción de óxido de nitrógeno a nivel de las arteriolas periféricas del cuerpo lúteo maduro, provocando su dilatación y, por consiguiente, un aumento del flujo sanguíneo. A

su vez, también predispondría a las células endoteliales a secretar endotelina 1 (ET-1) y angiotensina II (Ang II) (Morawietz et al., 2000; Gosgnach et al., 2000). Conjuntamente, todos estos sucesos suprimirían la producción de progesterona por las células luteínicas y, por lo tanto, el flujo sanguíneo jugaría un papel fundamental en el inicio de la luteolisis en la especie bovina (Miyamoto et al., 2005).

Finalmente, el agudo incremento de la irrigación va seguido de una disminución de esta un día más tarde, a la vez que desciende la concentración de progesterona (Shirasuna et al., 2004b); a continuación, se aprecia una importante reducción en el tamaño de esta estructura durante los 2-3 días posteriores (Herzog et al., 2010). En consecuencia, se podría llegar a la conclusión de que el cada vez menor flujo sanguíneo en el cuerpo lúteo podría tener una mayor influencia sobre la concentración de progesterona que la regresión de tejido luteínico (Lüttgenau y Bollwein, 2014).

Útero

Al igual que ocurre en el ovario, el flujo en la arteria uterina a lo largo del ciclo estral presenta un patrón repetitivo, caracterizado por la relación negativa existente entre 2 parámetros: la velocidad y la resistencia. De esta manera, mientras que los valores máximos de resistencia se alcanzan los días 0 (ovulación) y 1 del ciclo, los mínimos son observados durante los días -3, -2 y -1. En el caso de la velocidad, sucede lo mismo, pero de modo inverso, es decir, este parámetro llega a su máximo valor entre los días -3 y -1, siendo mínimo el día de la ovulación (Bollwein et al., 2000). A su vez, estos autores encontraron una asociación entre ambos datos y la concentración de estrógenos, y también entre la velocidad y la concentración de progesterona.

Estos cambios habían sido observados previamente en ovejas y cerdas (Ford, 1982). En estas especies, el flujo uterino se mantenía

bajo durante el diestro, en un ambiente con elevada concentración de progesterona; posteriormente, se incrementaba a la vez que lo hacían los niveles de estrógenos hasta el momento del estro. Consecuentemente, el día del ciclo estral en el que se encuentre el animal influye notablemente en la variabilidad de la resistencia y la velocidad de la vascularización (Bollwein et al., 2000).

Del mismo modo, el flujo sanguíneo también experimenta variaciones a lo largo de la gestación. Al igual que durante el ciclo estral, los parámetros de resistencia y velocidad se relacionan negativamente; así, a medida que avanza la preñez, la velocidad de la sangre en las arterias uterinas es cada vez mayor, mientras que la resistencia a su paso va disminuyendo. Igualmente, la resistencia es inversamente proporcional al diámetro de la arteria uterina y al volumen circulante. A su vez, todos estos valores son dependientes del mes de gestación en el que se encuentre el animal y de la localización de la arteria uterina, es decir, ipsilateral o contralateral al cuerno gestante (Bollwein et al., 2002).

A medida que avanza la preñez, la resistencia al paso de sangre en la arteria uterina va disminuyendo hasta la semana 36, a partir de la cual se incrementa ligeramente hasta el parto (Panarace et al., 2006). Resultados similares fueron observados por Bollwein et al. (2002), quienes además obtuvieron valores notablemente inferiores para este parámetro en la arteria uterina ipsilateral.

En resumen, tanto la velocidad del flujo como el diámetro de la arteria uterina se incrementan durante toda la gestación; como consecuencia, el volumen se intensifica exponencialmente, siendo más destacado en la arteria ipsilateral. No obstante, mientras que la velocidad sufre un rápido incremento los dos últimos tercios de preñez, el aumento del diámetro es más o menos constante (Bollwein et al., 2002; Herzog et al., 2011). Para-

dómicamente, el fuerte incremento de vascularización que tiene lugar al final de la gestación, adecuado a las crecientes necesidades del feto, se atribuye más al mayor diámetro del vaso que a la velocidad (Bollwein et al., 2002). Al emplear la fórmula $VOL = TAMV \times \pi \times (D \times 0,1 / 2)^2 \times 60$ (VOL = volumen sanguíneo, TAMV = velocidad máxima media del flujo sanguíneo en la arteria uterina y D = diámetro de la arteria uterina) para calcular el volumen sanguíneo, podemos ver que un pequeño incremento en el diámetro de un vaso grande hace variar el volumen considerablemente.

Por otro lado, Silva y Ginther (2010) llevaron a cabo un estudio en el cual compararon, mediante el empleo de Doppler color, la vascularización del útero en la parte media de cada cuerno, entre novillas gestantes y vacías, durante los días 0-18 post-inseminación. Al analizar los resultados, observaron que del día 14 al 18 post-ovulación se incrementaba la vascularización en ambos cuernos en hembras no gestantes; a su vez, este hecho se relacionaba en el tiempo con una disminución y una elevación de la concentración de progesterona y estrógenos en plasma, respectivamente. Sin embargo, solo a partir del día 18 era evidente un aumento del flujo sanguíneo en el cuerno ipsilateral de animales gestantes.

Otro factor que caracteriza el normal transcurso de la gestación es la desaparición de la señal de Notch (Figura 3), una escotadura en la onda obtenida mediante Doppler espectral que refleja el cierre de la válvula aórtica (Panarace et al., 2006). Esta marca está presente mientras la vascularización de la placenta no está totalmente desarrollada y los cambios estructurales de la arteria uterina no se han completado. En el momento en que estas modificaciones tienen lugar, la resistencia uterina al paso del flujo sanguíneo disminuye y la señal de Notch se va atenuando hasta desaparecer entre las 22 y 26 semanas de preñez en las arterias ipsilateral y contralateral, respectivamente (Panarace et al.,

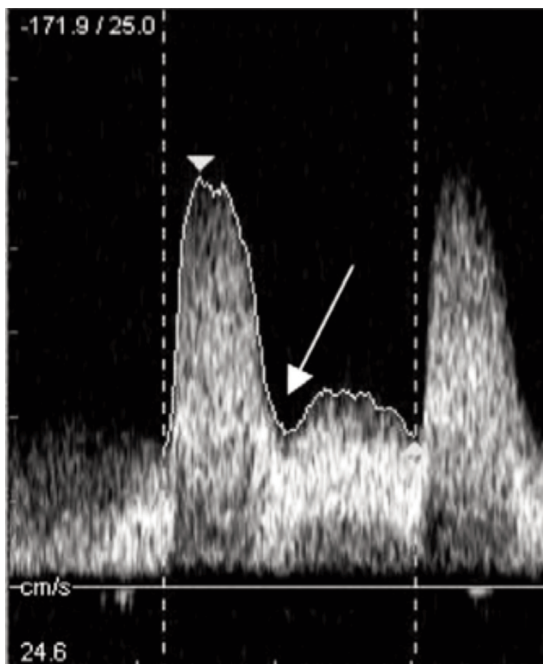


Figura 3. Imagen de un examen ecográfico con Doppler espectral mostrando la señal de Notch (flecha) en la arteria uterina de una vaca a los 31 días de preñez. Modificado de Panarace et al. (2006).
 Figure 3. Picture of an ultrasonographic examination with spectral Doppler showing the Notch signal (arrow) in the uterine artery of a cow at 31 days of pregnancy. Modified from Panarace et al. (2006).

2006). En humanos, unos valores de resistencia elevados y la persistencia de la señal de Notch son indicativos de un aporte sanguíneo anormal al feto (Harrington et al., 1996). Consecuentemente, este signo podría ser empleado como un indicador de desarrollo adecuado de la placenta.

Por último, cabe destacar que, durante los primeros cuatro días del período post-parto, el volumen de flujo sanguíneo en las arterias uterinas varía drásticamente (Heppelmann et al., 2013a). De esta manera, su valor se ve reducido casi en un 90 % en ambos vasos. Además, otros parámetros que también se modifican durante esta etapa son el diámetro, la velocidad y la resistencia. El primero de ellos disminuye un 37 % y 47 % en las arterias ipsilateral y contralateral, respectivamente. En cuanto a la velocidad, se rebaja a la mitad ya el primer día, seguido de un descenso más discreto a lo largo de los tres días posteriores. Por último, parámetros indicativos de la re-

sistencia al paso del flujo sanguíneo, como el índice de pulsatilidad, se ven incrementados notablemente, llegando a superar el doble de su medida inicial. De este modo, existe una correlación entre las distintas variables que caracterizan el flujo sanguíneo: tanto el diámetro como la velocidad y el volumen están relacionados de manera positiva entre sí, mientras que la resistencia mantiene una correlación negativa.

Aplicaciones del modo Doppler

A lo largo de los últimos 20 años, la ecografía en modo Doppler se ha convertido en una herramienta de gran utilidad en el ámbito de la reproducción bovina, demostrando ser eficaz y apta para sustituir otros métodos invasivos de evaluación del flujo sanguíneo (Ford et al., 1979).

A continuación, se expondrán una serie de situaciones en las que la aplicación de esta técnica no solo supondría un mayor aporte de información, sino también una ventaja a la hora de anticiparse a aquellos sucesos que, en caso de acontecer, podrían tener un impacto negativo en la salud del animal y, consecuentemente, en su rendimiento.

Predecir la ovulación y estimar la fertilidad

Como se ha explicado en el apartado correspondiente, mediante el empleo de la ecografía transrectal en modo Doppler se ha descubierto que, en el ganado vacuno, existe una notable desigualdad en la vascularización de la pared (Figura 4) de los folículos preovulatorios en comparación con aquellos folículos que no llegarán a ovular (Acosta et al., 2003).

De igual modo, es importante destacar que las diferencias observadas entre el período anterior y posterior al pico de LH confirmarían la hipótesis de que el estradiol y la LH están implicadas en el incremento de flujo sanguíneo hacia el folículo dominante (Acosta et al., 2003). Así mismo, Ginther (2007) señala que este incremento de señal Doppler en la pared del folículo es debido a un activo proceso de neovascularización. Complementariamente, Satheshkumar (2018), tras la realización de un estudio con Doppler espectral, observó una menor resistencia al paso del riego sanguíneo el día del estro, la cual indica vasodilatación e incremento del flujo al folículo para asegurar un adecuado aporte de factores nutricionales, endocrinos y de crecimiento para favorecer la ovulación.

Teniendo en cuenta esta información, el grado de vascularización de la pared, la velocidad del flujo sanguíneo y la resistencia a su paso podrían convertirse en indicadores fiables para identificar folículos sanos, así como para predecir el momento de la ovulación, pudiendo retrasarse esta última en el caso de encontrar desviaciones en dichos valores.

En relación con lo anterior, el incremento del flujo sanguíneo en el folículo preovulatorio también se ha asociado con la probabilidad de que el animal quede gestante. De esta manera, Hunter (2003) observó una mayor señal Doppler en novillas que resultaron gestantes, lo que podría ser debido a un incremento en el número y diámetro de las arteriolas encargadas de irrigar el folículo. Esta señal más intensa concuerda además con los menores índices de resistencia obtenidos por Siddiqui et al. (2008), mediante el examen de un grupo de hembras preñadas con Doppler color y espectral.

Evaluación de la funcionalidad del cuerpo lúteo

Otra importante aplicación del modo Doppler es que permite la visualización del flujo sanguíneo en el cuerpo lúteo, posibilitando la evaluación de su función mediante la utilización de una técnica no invasiva (Acosta et al., 2002). Se ha empleado ya en diferentes especies como en vacas (Herzog et al., 2010), yeguas (Brogan et al., 2016), ovejas (Figueira et al., 2015) y búfalas (Lasheen et al., 2018).

De esta manera, en el ganado bovino se ha observado una buena correlación (mayor que con el área) entre la vascularización de esta estructura y la concentración de progesterona a lo largo del ciclo estral; este hecho cobra sentido teniendo en cuenta que tanto el aporte de precursores de esteroides como la liberación de la progesterona a la circulación dependen de una adecuada irrigación (Acosta et al., 2002).

Por otra parte, tal y como se ha dicho anteriormente, el cuerpo lúteo no siempre es sensible a la acción de la PGF2 α . Así, si se administra una dosis durante los 5 días post-ovulación, esta no tendrá efecto y tanto la concentración de progesterona en plasma como el tamaño luteal seguirán aumentando (Acosta et al., 2002).

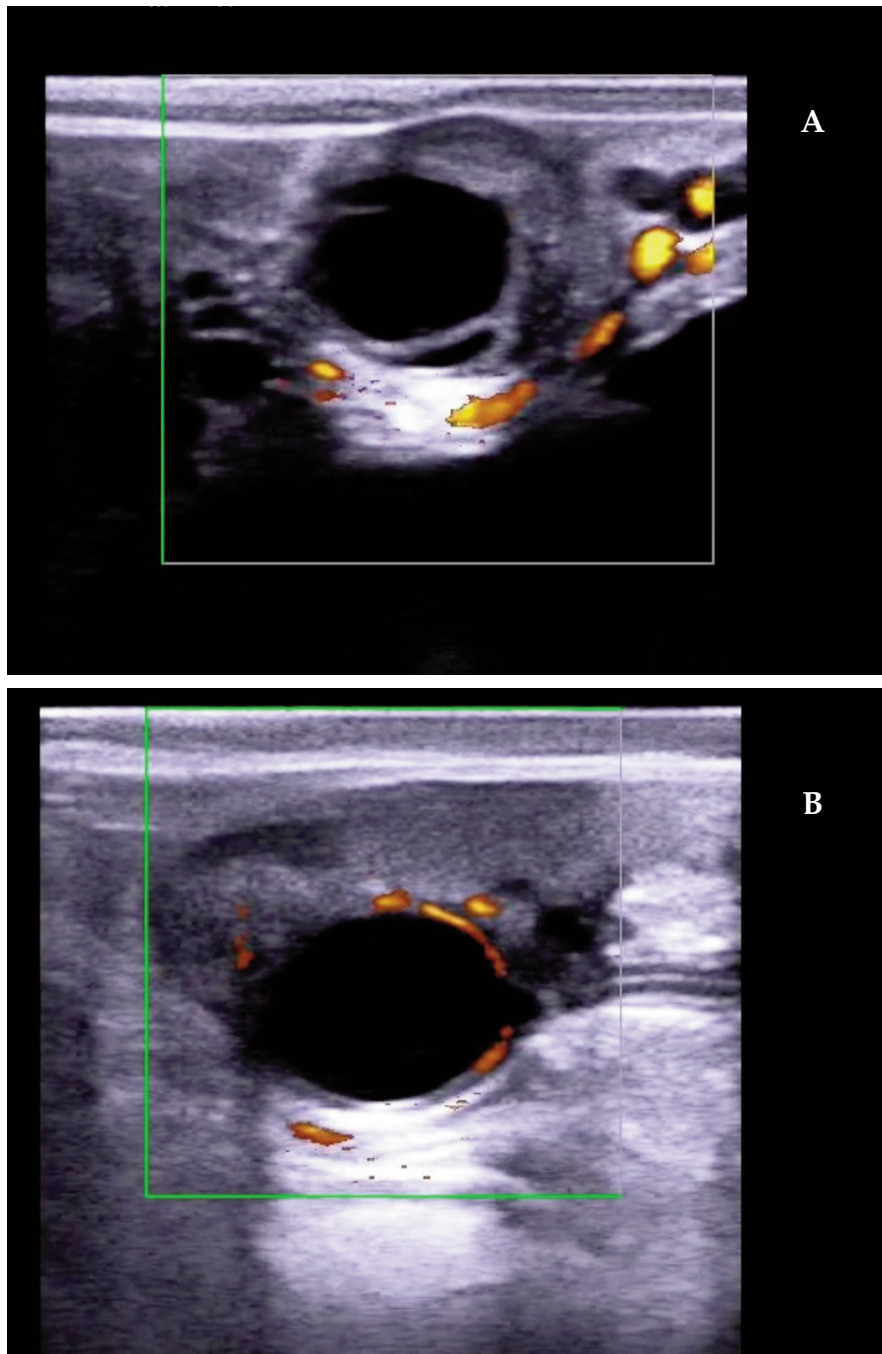


Figura 4. Imagen de un examen ecográfico con Doppler potencia de un folículo atrésico (A) y un folículo preovulatorio (B), en la que se puede observar la diferencia en el flujo sanguíneo.
Figure 4. Picture of an ultrasonographic examination with power Doppler of an atretic follicle (A) and a preovulatory follicle (B), in which the difference in blood flow can be observed.

A su vez, tampoco sería necesario el empleo de esta hormona a final del ciclo (días 17-19), ya que el cuerpo lúteo se encontrará bajo la influencia de la $PGF2\alpha$ secretada por el endometrio (Miyamoto y Shirasuna, 2009). Por este motivo, la aplicación práctica de la ecografía Doppler como herramienta complementaria a la hora de establecer protocolos de inducción/sincronización de celo resulta evidente, puesto que permitiría seleccionar sólo aquellos animales que presenten cuerpos lúteos capaces de responder al tratamiento con prostaglandinas, es decir, que se encuentren en mitad de ciclo y tengan un adecuado flujo vascular (Lüttgenau y Bollwein, 2014).

Realizar un diagnóstico de gestación precoz

Cuerpo lúteo

Puesto que el flujo sanguíneo en el cuerpo lúteo permite evaluar su funcionalidad, se han llevado a cabo diferentes estudios con el objetivo de intentar establecer un diagnóstico de gestación más precoz (días 19-21) empleando la ecografía en modo Doppler (Matsui y Miyamoto, 2009). Scully et al. (2015) descubrieron que las diferencias entre los animales gestantes, no gestantes y cíclicos respecto a la irrigación y tamaño de esta estructura eran aparentes el día 18 después de la inseminación artificial; además, estas variables estaban positivamente relacionadas entre sí y con la concentración de progesterona. No obstante, la ecotextura que podríamos apreciar con un examen ecográfico tradicional no difería entre los distintos tipos de animales. En este estudio, el flujo sanguíneo era mayor en vacas preñadas que en no preñadas, sin existir diferencias significativas entre preñadas y cíclicas.

Por otro lado, Siqueira et al. (2019) demostraron que el flujo sanguíneo comienza a diferenciarse a partir del día 16 post-inseminación, 24-48 horas antes que cualquier otra

variable morfológica o funcional; así, la vascularización comienza a ser cada vez menor del día 16 en adelante en animales que no quedan gestantes. Consecuentemente, el modo Doppler podría emplearse en el control reproductivo del ganado vacuno para mejorar la productividad de los rebaños mediante la identificación temprana de animales no gestantes, ya que sería posible comenzar antes un protocolo de resincronización y, de esta manera, reducir el intervalo entre partos (Siqueira et al., 2019).

En relación con el diagnóstico precoz de no gestación debemos mencionar la identificación de animales que han sufrido mortalidad embrionaria temprana, en los cuales se observa un intervalo interestros >25 días (Herzog et al., 2011). Estos autores observaron que el flujo sanguíneo luteal de estos animales era similar al de los individuos gestantes, hasta pasados 13 días desde el celo. Sin embargo, mientras que en el grupo de vacas preñadas la irrigación continuaba aumentando, en aquellas que habían sufrido mortalidad embrionaria se detenía. Esta característica permitiría identificar precozmente a estos animales, que de otra forma serían difícilmente reconocibles, ya que no hallaron diferencias en los niveles de progesterona.

En resumen, varios autores (Utt et al., 2009; Siqueira et al. 2019) están de acuerdo en que el flujo sanguíneo del cuerpo lúteo podría ser un buen parámetro para la identificación de animales no gestantes, puesto que se observa un descenso del mismo asociado a la luteolisis. Lamentablemente, este indicador por sí solo no debería ser empleado a nivel práctico debido a su insuficiente sensibilidad y especificidad; además, las destacables variaciones entre animales dificultan la instauración de un punto de corte (Herzog et al., 2011; Lüttgenau y Bollwein, 2014). Una posible solución sería la propuesta por Scully et al. (2014), quienes, al combinar la evaluación del flujo vascular del cuerpo lúteo, su tamaño y la ecotextura del útero el día 18 post-

inseminación, obtuvieron sensibilidades y especificidades superiores al 70 %; más aún, al realizar el mismo examen tres días después, estos valores superaron el 97,5 %.

Arterias y paredes uterinas

Como se ha señalado previamente, las arterias uterinas también sufren una serie de variaciones en cuanto a las características de su flujo sanguíneo, tanto a lo largo del ciclo estral como de la gestación. Consecuentemente, conseguir comprender las diferencias existentes entre ambas situaciones y lograr identificarlas durante el examen ecográfico en modo Doppler supone un punto clave para diferenciar animales gestantes de aquellos que no lo están.

De esta manera, las hembras no gestantes y cíclicas presentan una velocidad de flujo constantemente baja y una elevada resistencia durante la fase luteal. A medida que se aproxima el día del estro, la velocidad va en aumento, alcanzando su máximo valor antes de la ovulación, mientras que los niveles de resistencia se ven disminuidos (Bollwein et al., 2000).

Por el contrario, en individuos gestantes, se observa un constante incremento en la velocidad y una disminución de la resistencia durante la segunda semana de preñez. Posteriormente, Honnens et al. (2008a) observaron una disminución de la velocidad y un aumento de la resistencia (alcanzando su mínimo y máximo, respectivamente, el día 18); estos cambios son debidos probablemente a una vasoconstricción e indican una irrigación uterina reducida durante la fase de reconocimiento maternal de la gestación, considerado el momento más crítico de toda la preñez, que tiene lugar sobre los días 15-17 (Binelli et al., 2001). Estos cambios van seguidos nuevamente por un incremento de la

velocidad y una disminución de la resistencia aproximadamente los días 20-22, en los que tiene lugar la adhesión entre el blastocisto y el epitelio uterino (Guillomot y Guay, 1982). Este suceso puede ser debido a los procesos de angiogénesis que empiezan durante la fase de implantación, habiéndose ya observado esta asociación en otras especies (Chavatte-Palmer y Guillomot, 2007). A su vez, Honnens et al. (2008a) no encontraron una relación entre la concentración de estrógenos y progesterona y el flujo sanguíneo de la arteria uterina en hembras gestantes, por lo que su regulación en estos animales parece depender de factores de regulación diferentes y/o adicionales, bien a nivel sistémico o local.

Un aspecto a tener en cuenta es la influencia que el embrión puede ejercer en la irrigación uterina. En el estudio llevado a cabo por Silva y Ginther (2010), comprobaron si en el grupo de animales preñados existían o no diferencias entre el flujo sanguíneo del cuerno que albergaba el embrión/feto y el que no durante los días 0-60.

Concluyeron que el grado de vascularización estaba relacionado con la expansión del alantocorion, y los resultados indicaban que el incremento de la perfusión uterina dependía del contacto local y directo entre el embrión y sus membranas con el endometrio (Silva y Ginther, 2010).

Para terminar, a pesar de que no existen evidencias suficientes para considerar la evaluación del flujo sanguíneo en la arteria uterina con ecografía Doppler un método fiable para el diagnóstico de gestación, varios autores han encontrado ciertas diferencias en este parámetro entre hembras gestantes y vacías. Por este motivo, tanto la presencia del embrión como la de sus membranas han sido propuestas como posibles factores reguladores de la irrigación del útero al inicio de la preñez.

Superovulación y transferencia embrionaria

Es importante destacar que, en medicina veterinaria, el ovario recibe aporte sanguíneo a partir de dos vasos diferentes: la arteria ovárica y la rama uterina de la arteria ovárica (Ford y Chenault, 1981). Por este motivo, el hecho de medir el flujo vascular en una localización proximal a la unión de la rama uterina ocasionaría una infravaloración de la irrigación ovárica total.

Alternativamente, se han estudiado las variaciones en el flujo sanguíneo de la arteria uterina en vacas en régimen de superovulación y su correlación con la respuesta ovárica y los niveles de hormonas esteroideas (Honnens et al., 2008b). Además, también intentaron probar si la ecografía transrectal en modo Doppler resultaba útil a la hora de predecir el número de embriones que podrían ser recolectados. Los resultados obtenidos mostraron un notable incremento del flujo uterino, debido al aumento del volumen y a los menores índices de resistencia. Este hecho fue atribuido al desarrollo folicular y a los cada vez mayores niveles de estradiol (Strigini et al., 1995).

Por otra parte, existe cierta controversia entre investigadores sobre si el mayor flujo uterino es debido a la estimulación física por parte del embrión (Bollwein et al., 2003; Silva et al., 2005) o bien a la producción de sustancias vasoactivas por el embrión y/o el endometrio (Ford, 1982; Ford et al., 1979). Es importante tener en cuenta que una notable diferencia entre el estudio de Honnens et al. (2008b) y los arriba mencionados es que, en estos últimos, los animales examinados no habían sido sometidos a un protocolo de superovulación. Así, estos autores sólo observaron un incremento en el flujo sanguíneo a partir de la segunda semana de gestación, mientras que Honnens et al. (2008b) advirtieron que ya en el día 7 existía una elevada irrigación. Este hecho podría ser debido a la pre-

sencia de múltiples embriones en el interior del útero y a la mayor producción de sustancias vasoactivas en comparación con gestaciones individuales (Honnens et al., 2008b). A pesar de los hallazgos destacados, no se ha podido establecer una relación sólida entre el flujo de la arteria uterina y el número de embriones transferibles; por este motivo, la aplicación de manera única de la ultrasonografía Doppler en transferencia embrionaria para predecir el número de embriones potencialmente transferibles tras un protocolo de superovulación no resulta fiable.

Sin embargo, no podemos olvidar que la determinación temprana de animales no gestantes incrementa la eficiencia reproductiva en programas de transferencia embrionaria puesto que, cuanto antes se identifiquen, antes podrán ser resincronizados para el siguiente servicio.

Posteriormente, con el objetivo de intentar predecir el éxito de un protocolo de superovulación, Honnens et al. (2009) llevaron a cabo un estudio en el cual examinaron mediante ultrasonografía Doppler la arteria ovárica para intentar establecer una relación entre el flujo sanguíneo del ovario y su respuesta a tratamientos hormonales. Sin embargo, los resultados obtenidos mostraron que esta técnica no era capaz de proporcionar la suficiente información; consecuentemente, estos autores determinaron que la valoración del flujo ovárico total, medido distalmente a las ramificaciones, o bien el flujo folicular, medido en las paredes de los folículos, podría proporcionar una mejor estimación del estatus funcional de estos últimos durante el tratamiento con gonadotropinas.

Diagnóstico de patologías uterinas post-parto

Las patologías uterinas afectan a un gran número de animales tras el parto y conllevan una alteración tanto de la función ovárica

como del propio útero; consecuentemente, aparecen una serie de pérdidas económicas derivadas de la infertilidad causada por estas enfermedades, del incremento de la tasa de eliminación, de la menor producción de leche y de los costes del tratamiento (Sheldon et al., 2009).

El flujo sanguíneo tiene un papel fundamental en el proceso de la inflamación, siendo la vasodilatación la característica más importante de todos los procesos inflamatorios (Foster, 2007); este hecho, junto al conocimiento de que, efectivamente, el flujo sanguíneo experimenta unas variaciones notables durante el post-parto, hace evidente que las distintas alteraciones que puedan aparecer en este período van a ocasionar la obtención de valores de parámetros Doppler distintos a los que se observarían en un post-parto fisiológico.

Las diferencias más destacables entre animales con patologías puerperales y sanos, en cuanto al tamaño uterino y a las variables del flujo sanguíneo, se producen al comienzo de dicha etapa. Transcurridos 8 días desde el parto, se aprecia un incremento en el flujo de las arterias uterinas (a la par que una menor resistencia) en los individuos enfermos. Una posible hipótesis para explicar este incremento en vacas con patologías post-parto es el efecto que la mayor concentración de Prostaglandina E2 (PGE2) observada podría tener sobre el mismo (Mateus et al., 2003). Además de ser inmunosupresora, esta hormona puede actuar como un potente vasodilatador y mio-relajante (Still y Greiss, 1978).

Por otro lado, Debertolis et al. (2016) investigaron cómo variaba el flujo sanguíneo en las arterias uterinas de vacas con endometritis inducida (infusión intrauterina con 720 mg de policresuleno); además, estudiaron las consecuencias que dicha inflamación podría tener sobre el siguiente ciclo estral. Los resultados obtenidos mostraron un incremento en la velocidad del flujo una hora después de

la infusión, manteniéndose en niveles elevados los 4 días posteriores. Por el contrario, los valores indicativos de la resistencia variaron de manera inversa, disminuyendo rápidamente después de la infusión y manteniéndose bajos hasta el comienzo del siguiente ciclo. Estos cambios reflejan un evidente aumento de la irrigación durante los cuatro primeros días tras la inducción de la inflamación, volviendo a niveles normales al inicio del siguiente ciclo. Además, valoraron las alteraciones en los perfiles hormonales, obteniendo un descenso en la concentración media de progesterona y una elevación de los niveles de estrógenos; no obstante, estos hallazgos eran mucho más moderados en comparación con las modificaciones del flujo sanguíneo.

Por último, mientras que en individuos sanos el flujo uterino sigue modificándose una vez alcanzada la completa involución uterina, en hembras con afecciones post-parto estos cambios no tienen lugar, permaneciendo la perfusión invariable durante los días 45 y 65. Este hallazgo sugiere que el proceso inflamatorio afecta de manera más importante al sistema vascular que al tejido conectivo uterino, lo que conlleva una involución vascular más atrasada respecto a la involución tisular (Heppelmann et al., 2013b).

Diagnóstico de quistes ováricos

Una de las patologías ováricas más frecuentes en ganado vacuno son los quistes ováricos. Estas formaciones pueden ser de dos tipos: quistes foliculares, caracterizados por presentar una pared delgada y niveles bajos o basales de progesterona; o bien quistes luteinizados, cuyas paredes presentan mayor grosor y los niveles de progesterona se encuentran significativamente elevados (Douthwaite y Dobson, 2000).

Existen diferentes opciones que nos permiten diagnosticar el tipo de quiste que presenta el animal. Aunque sería posible, mediante pal-

pación transrectal resulta difícil distinguirlos (Farin et al., 1992); por otro lado, la determinación de los niveles de progesterona es un método fiable, mas requiere tiempo y su coste es elevado. Como alternativa a estas dos técnicas está la ecografía en blanco y negro, que permite observar la pared y medir su grosor, el cual será <3 mm en quistes foliculares y >3 mm en quistes luteinizados (Matsui y Miyamoto, 2009). No obstante, la ecografía en modo Doppler color ofrece una mayor seguridad a la hora de realizar la medición, puesto que la observación del flujo sanguíneo facilita la delimitación de la pared (Matsui y Miyamoto, 2009).

En la práctica, el hecho de que el modo Doppler permita distinguir de manera más fiable el tipo de quiste que presenta el animal resulta útil a la hora de instaurar un tratamiento, puesto que este difiere en función de la clase de quiste a eliminar. En el caso de los quistes foliculares, el tratamiento de elección se realiza con análogos de la Hormona liberadora de Gonadotropina (GnRH), con el objetivo de inducir su luteinización. Por el contrario, la $PGF2\alpha$ y sus análogos se emplean para tratar quistes luteinizados, ocasionando la regresión del tejido luteal. Sin embargo, actualmente se emplea con más frecuencia el protocolo OvSynch para el tratamiento de esta patología; al combinar las dos hormonas citadas anteriormente, la identificación del tipo de quiste no es imprescindible. No obstante, la tasa de preñez posterior sigue siendo baja (Jeengar et al., 2014).

Conclusiones

La ecografía en modo Doppler es una técnica que posee una gran ventaja frente a la ultrasonografía convencional en modo B, y es que permite el estudio de la irrigación de los

diferentes órganos y estructuras. Dentro del ámbito de la veterinaria, gracias al descenso tanto en el coste como en el tamaño de los equipos de ultrasonidos, en los últimos años ha sido posible implantar este sistema a nivel de campo.

Mediante el empleo de esta técnica, en reproducción bovina se ha podido profundizar en el conocimiento de los cambios hemodinámicos que tienen lugar a lo largo del ciclo estral, de la gestación y también durante el post-parto. Esta información ha resultado ser de gran utilidad y se ha aprovechado para comprobar su fiabilidad a la hora de realizar determinados procedimientos que ayudarían a mejorar el rendimiento de las explotaciones.

Entre sus aplicaciones cabe destacar que ofrece la posibilidad de predecir el momento de la ovulación y estimar la fertilidad del animal. Además, permite evaluar la funcionalidad del cuerpo lúteo, pudiendo ser de utilidad a la hora de realizar un diagnóstico de no gestación. También podría emplearse para predecir el éxito de los protocolos de superovulación y el número de embriones recolectados. Por último, esta técnica podría servir de ayuda para detectar precozmente patologías uterinas post-parto y diferenciar los distintos tipos de quistes ováricos.

En definitiva, la ecografía en modo Doppler, en sus distintas versiones, es una técnica relativamente novedosa en lo que respecta a la reproducción bovina y gracias a la cual se ha podido obtener información sobre el estado del tracto genital sin el empleo de métodos invasivos. A pesar de que de manera individual no ha demostrado ser lo suficientemente fiable para la realización de ciertos procedimientos, sí ha ofrecido resultados interesantes para intentar establecer una relación con otros parámetros y, de esta forma, continuar la investigación en este campo.

Agradecimientos

Uxía Yáñez Ramil cuenta con un contrato predoctoral (Ref. 2020/122) financiado por la Xunta de Galicia.

Referencias bibliográficas

- Acosta TJ, Yoshizawa N, Ohtani M, Miyamoto A (2002). Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F_{2α} injection in the cow. *Biology of Reproduction* 66: 651-658. <https://doi.org/10.1095/biolreprod66.3.651>.
- Acosta TJ, Hayashi KG, Ohtani M, Miyamoto A (2003). Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reproduction* 125: 759-767. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1250759>.
- Acosta TJ (2007). Studies of follicular vascularity associated with follicle selection and ovulation in cattle. *Journal of Reproduction and Development* 53: 39-44. <https://doi.org/10.1262/jrd.18153>.
- Adams GP (1999). Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 54: 17-32. <https://doi.org/10.1530/biosciproc.4.002>.
- Beal WE, Perry RC, Corah LR (1992). The use of ultrasound in monitoring reproductive physiology of beef cattle. *Journal of Animal Science* 70: 924-929. <https://doi.org/10.2527/1992.703.924x>.
- Binelli M, Thatcher WW, Mattos R, Baruselli PS (2001). Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology* 56: 1451-1463. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00646-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00646-X).
- Bollwein H, Meyer HHD, Maierl J, Weber F, Baumgartner U, Stolla R (2000). Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. *Theriogenology* 53: 1541-1552. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00296-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00296-X).
- Bollwein H, Baumgartner U, Stolla R (2002). Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during pregnancy. *Theriogenology* 57: 2063-2061. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00706-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00706-9).
- Bollwein H, Mayer R, Stolla R (2003). Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during early pregnancy in mares. *Theriogenology* 60: 597-605. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00080-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00080-3).
- Brännström M, Zackrisson U, Hagström HG, Josefsson B, Hellberg P, Granberg S, Collins WP, Bourne T (1998). Preovulatory changes of blood flow in different regions of the human follicle. *Fertility and Sterility* 69: 534-442. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(97\)00544-X](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(97)00544-X).
- Brogan PT, Henning H, Stout TAE, de Ruijter-Villani M (2016). Relationship between colour flow Doppler sonographic assessment of corpus luteum activity and progesterone concentrations in mares after embryo transfer. *Animal Reproduction Science* 166: 22-27. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.12.010>.
- Chavatte-Palmer P, Guillomot M (2007). Comparative implantation and placentation. *Gynecologic and Obstetric Investigation* 64: 166-174. <https://doi.org/10.1159/000101742>.
- Debertolis L, Mari G, Merlo B, Merbach S, Schoon HA, Iacono E, Bollwein H (2016). Effects of induced endometritis on uterine blood flow in cows as evaluated by transrectal Doppler sonography. *Journal of Veterinary Science* 17: 189-197. <https://doi.org/10.4142/jvs.2016.17.2.189>.
- Douthwaite R, Dobson H (2000). Comparison of different methods of diagnosis of cystic ovarian disease in cattle and an assessment of its treatment with a progesterone-releasing intravaginal device. *Veterinary Record* 147: 355-359. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.147.13.355>.
- Farin PW, Youngquist RS, Parfet JR, Garverick HA (1992). Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts by palpation per rectum and linear-array ultrasonography in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 200: 1085-1089.

- Figueira LM, Fonseca JF, Arashiro E, Souza-Fabjan J, Ribeiro A, Oba E, Viana J, Brandão FZ (2015). Colour Doppler ultrasonography as a tool to assess luteal function in Santa Inês ewes. *Reproduction in Domestic Animals* 50: 643-650. <https://doi.org/10.1111/rda.12543>.
- Filteau V, DesCôteaux L (1998). Predictive values of early pregnancy diagnosis by ultrasonography in dairy cattle. *American Association of Bovine Practitioners Proceedings of the Thirty-First Annual Conference, 24-26 septiembre, Spokane, WA, USA*, pp. 170-171. <https://doi.org/10.21423/aabpro19985712>.
- Ford SP, Chenault JR, Echternkamp SE (1979). Uterine blood flow of cows during the oestrous cycle and early pregnancy: effect of the conceptus on the uterine blood supply. *Journal of Reproduction and Fertility* 56: 53-62. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0560053>.
- Ford SP, Chenault JR (1981). Blood flow to the corpus luteum-bearing ovary and ipsilateral uterine horn of cows during the oestrous cycle and early pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility* 62: 555-562. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0620555>.
- Ford SP (1982) Control of uterine and ovarian blood flow throughout the estrous cycle and pregnancy of ewes, sows and cows. *Journal of Animal Science* 2: 32-42. https://doi.org/10.2527/1982.55Supplement_II32x
- Foster RA (2007). Female reproductive system. En: *Pathologic Basis of Veterinary Disease* (Eds. McGavin MD y Zachary JF), pp. 1263-1316. Mosby Elsevier.
- Ginther OJ (2007). *Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Color-Doppler Ultrasonography*, Book 4. Equiservices Publishing, USA. 258 pp.
- Ginther OJ, Dangudubiyam SV, Domingues RR (2019). Follicle blood flow and FSH concentration associated with variations in characteristics of follicle selection in heifers. *Theriogenology* 125: 93-101. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.10.019>.
- Gosgnach W, Challah M, Coulet F, Michel JB, Battle T (2000). Shear stress induces angiotensin converting enzyme expresión in cultured smooth muscle cells: posible involvement of bFGF. *Cardiovascular Research* 45: 486-492. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(99\)00269-2](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(99)00269-2).
- Guillomot M, Guay P (1982). Ultrastructural features of the cell surfaces of uterine and trophoblastic epithelia during embryo attachment in the cow. *The Anatomical Record* 204: 315-322. <https://doi.org/10.1002/ar.1092040404>.
- Harrington K, Cooper D, Lees C, Hecher K, Campbell S (1996). Doppler ultrasound of the uterine arteries: the importance of bilateral notching in the prediction of pre-eclampsia, placental abruption or delivery of a small-for-gestational-age baby. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 7: 182-188. <https://doi.org/10.1046/j.1469-0705.1996.07030182.x>.
- Heppelmann M, Krüger L, Leidl S, Bollwein H (2013a). Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during the first two weeks after parturition in Simmenthal heifers. *Journal of Veterinary Science* 14: 323-327. <https://doi.org/10.4142/jvs.2013.14.3.323>.
- Heppelmann M, Weinert M, Brömming A, Piechotta M, Hoedemaker M, Bollwein H (2013b). The effect of puerperal uterine disease on uterine involution in cows assessed by Doppler sonography on the uterine arteries. *Animal Reproduction Science* 143: 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.11.003>.
- Herzog K, Bollwein H (2007). Application of Doppler ultrasonography in cattle reproduction. *Reproduction of Domestic Animals* 42: 51-58. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00903.x>.
- Herzog K, Brockhan-Lüdemann M, Kaske M, Beindorff N, Paul V, Niemann H, Bollwein H (2010). Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. *Theriogenology* 73: 691-697. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.11.016>.
- Herzog K, Voss C, Kastelic JP, Beindorff N, Paul V, Niemann H, Bollwein H (2011). Luteal blood flow increases during the first three weeks of pregnancy in lactating dairy cows. *Theriogenology* 75: 549-554. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.09.024>.

- Honnens A, Voss C, Herzog K, Niemann H, Rath D, Bollwein H (2008a). Uterine blood flow during the first 3 weeks of pregnancy in dairy cows. *Theriogenology* 70: 1048-1056. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.06.022>.
- Honnens A, Niemann H, Paul V, Meyer HHD, Bollwein H (2008b). Doppler sonography of the uterine arteries during a superovulatory regime in cattle: Uterine blood flow in superovulated cattle. *Theriogenology* 70: 859-867. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.054>.
- Honnens A, Niemann H, Herzog K, Paul V, Meyer HHD, Bollwein H (2009). Relationships between ovarian blood flow and ovarian response to eCG-treatment of dairy cows. *Animal Reproduction Science* 113: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.05.077>
- Hunter RHF (2003). *Physiology of the graafian follicle and ovulation*. Cambridge University Press. Cambridge, UK. 418 pp.
- Jeengar K, Chaudhary V, Kumar A, Raiya S, Gaur M, Purohit GN (2014). Ovarian cysts in dairy cows: old and new concepts for definition, diagnosis and therapy. *Animal Reproduction* 11: 63-73.
- Jiang JY, Macchiarelli G, Tsang BK, Sato E (2003). Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles. *Reproduction* 125: 211-223. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1250211>.
- Lasheen ME, Badr HM, Kandiel MMM, Abo El-Maaty AM, Samir H, Farouk M, Eldawy MH (2018). Predicting early pregnancy in Egyptian buffalo cows via measuring uterine and luteal blood flows, and serum and saliva progesterone. *Tropical Animal Health and Production* 50: 137-142. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1413-6>.
- Lüttgenau J, Bollwein H (2014). Evaluation of bovine luteal blood flow by using color Doppler ultrasonography. *Reproductive Biology* 14: 103-109. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2014.03.003>.
- Mateus L, Lopes da Costa L, Diniz P, Ziecik AJ (2003). Relationship between endotoxin and prostaglandin (PGE2 and PGFM) concentration and ovarian function in dairy cows with puerperal endometritis. *Animal Reproduction Science* 76: 143-154. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(02\)00248-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00248-8).
- Matsui M, Miyamoto A (2009). Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: Practical use for reproductive management in the cow. *The Veterinary Journal* 181: 232-240. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.02.027>.
- Miyamoto A, Shirasuna K, Wijayagunawardane MPB, Watanabe S, Hayashi M, Yamamoto D, Matsui M, Acosta TJ (2005). Blood flow: a key regulatory component of corpus luteum function in the cow. *Domestic Animal Endocrinology* 29: 329-339. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.03.011>.
- Miyamoto A, Shirasuna K (2009). Luteolysis in the cow: a novel concept of vasoactive molecules. *Animal Reproduction* 6: 47-59.
- Morawietz H, Talanow R, Szibor M, Rueckschloss U, Schubert A, Bartling B, Darmer D, Holtz J (2000). Regulation of the endothelin system by shear stress in human endothelial cells. *The Journal of Physiology* 525: 761-770. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.00761.x>.
- O'Shea JD, Hay MF, Cran DG (1978). Ultrastructural changes in the theca interna during follicular atresia in sheep. *Reproduction* 54: 183-187. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0540183>.
- Panarace M, Garnil C, Marfil M, Jauregui G, Laggioia J, Luther E, Medina M (2006). Transrectal Doppler sonography for evaluation of uterine blood flow throughout pregnancy in 13 cows. *Theriogenology* 66: 2113-2119. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.03.040>.
- Paolinelli P (2013). Principios físicos e indicaciones clínicas del ultrasonido Doppler. *Revista Médica Clínica Las Condes* 24: 139-148. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(13\)70139-1](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(13)70139-1).
- Satheshkumar S (2018). Perifollicular blood flow in the follicle from which ovulation occurs in cows. *Animal Reproduction Science* 198: 154-159. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.09.014>.
- Scully S, Butler ST, Kelly AK, Evans ACO, Lonergan P, Crowe MA (2014). Early pregnancy diagnosis on days 18 to 21 postinsemination using high-resolution imaging in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 97: 3542-3557. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7518>.

- Scully S, Evans ACO, Carter F, Duffy P, Lonergan P, Crowe MA (2015). Ultrasound monitoring of blood flow and echotexture of the corpus luteum and uterus during early pregnancy of beef heifers. *Theriogenology* 83: 449-458. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.10.009>.
- Sheldon IM, Cronin J, Goetze L, Donofrio G, Schuberth HJ (2009). Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biology of Reproduction* 81: 1025-1032. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.077370>.
- Shirasuna K, Asaoka H, Acosta TJ, Wijayagunawardane MPB, Ohtani M, Hayashi M, Matsui M, Miyamoto A (2004b). Real-time relationships in intraluteal release among prostaglandin $F_2\alpha$, endothelin-1, and angiotensin II during spontaneous luteolysis in the cow. *Biology of Reproduction* 71: 1706-1711. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.030270>.
- Shirasuna K, Wijayagunawardane MPB, Watanabe S, Yamamoto D, Matsui M, Ohtani M, Miyamoto A (2004a). A blood flow in the corpus luteum acutely increases together with endothelin-1 mRNA expression at early stage of regression during spontaneous luteolysis in the cow. *Biology of Reproduction* 71: 137.
- Siddiqui MAR, Almamun M, Ginther OJ (2008). Blood flow in the wall of the preovulatory follicle and its relationship to pregnancy establishment in heifers. *Animal Reproduction Science* 113: 287-292. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.07.008>.
- Silva LA, Gastal EL, Beg MA, Ginther OJ (2005). Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. *Biology of Reproduction* 72: 755-761. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.036384>.
- Silva LA, Ginther OJ (2010). Local effect of the conceptus on uterine vascular perfusion during early pregnancy in heifers. *Reproduction* 139: 453-463. <https://doi.org/10.1530/REP-09-0363>.
- Siqueira LG, Arashiro EK, Ghetti AM, Souza ED, Feres LF, Pfeifer LF, Fonseca JF, Viana JH (2019). Vascular and morphological features of the corpus luteum 12 to 20 days after timed artificial insemination in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 102: 1-11. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15853>.
- Still JG, Greiss FC (1978). The effect of prostaglandins and other vasoactive substances on uterine blood flow and myometrial activity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 130: 1-8. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(78\)90430-1](https://doi.org/10.1016/0002-9378(78)90430-1).
- Strigini FAL, Scida PAM, Parri C, Visconti A, Susini S, Genazzani AR (1995). Modifications in uterine and intraovarian artery impedance in cycles of treatment with exogenous gonadotropins: effects of luteal-phase support. *Fertility and Sterility* 64: 76-80. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)57658-4](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)57658-4).
- Utt MD, Johnson GL, Beal WE (2009). The evaluation of corpus luteum blood flow using color-flow Doppler ultrasound for early pregnancy diagnosis in bovine embryo recipients. *Theriogenology* 71: 707-715. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.032>.

(Aceptado para publicación el 20 de mayo de 2021)