

# ECOGRAFÍA DOPPLER: SU APLICACIÓN EN EL MANEJO REPRODUCTIVO DEL GANADO

Gustavo D.A. Gastal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, La Estanzuela, Uruguay

Email: ggastal@inia.org.uy

## INTRODUCCIÓN

El surgimiento de la ecografía en modo B en la reproducción bovina en la década de 1980 anunció enormes avances en la investigación y la práctica clínica, permitiendo por primera vez la visualización no invasiva de los órganos reproductores internos (revisado por Bollwein and Heppelmann, 2016). A pesar de la técnica permitir la visualización de la morfología del órgano, esto no provee informaciones de la funcionalidad del órgano, como la perfusión sanguínea. En los últimos 20 años, varios estudios vienen utilizando la ultrasonografía Doppler color para comprender el flujo sanguíneo en procesos fisiológicos (Bollwein et al., 2002, 2000; Ginther, 2007) y patológicos (Heppelmann et al., 2013; Sharma et al., 2019) del tracto genital de bovinos. Recientemente, el uso de la ecografía en modo Doppler color viene siendo utilizada como herramienta de diagnóstico en el manejo reproductivo, principalmente para mejorar los resultados de protocolos de sincronización de estro (De Tarso et al., 2017; Pugliesi et al., 2019; Viana et al., 2013). La baja performance reproductiva en vacas sometidas a protocolos de sincronización de estro está principalmente relacionadas con la fase de maduración del folículo preovulatorio, intervalo hasta la ovulación y el exacto momento de la inseminación artificial (Siddiqui et al., 2009b, 2009a). Además, la vascularización del folículo preovulatorio está relacionada con la calidad del ovocito, tamaño del cuerpo lúteo sucesor y su producción de progesterona (De Tarso et al., 2017; Miyamoto et al., 2006; Siddiqui et al., 2009a). Por lo tanto, la evaluación del diámetro asociado con el flujo sanguíneo del folículo preovulatorio tiene como propósito determinar la calidad y el momento de la ovulación de vacas sometidas a protocolos de sincronización de celo para realización de la inseminación artificial en el momento adecuado. Mientras la evaluación del diámetro asociado con el flujo sanguíneo del cuerpo lúteo entre los días 19 y 23 post- inseminación artificial busca identificar

las vacas no preñadas (Bollwein and Heppelmann, 2016). Este artículo tiene como objetivo describir los principios básicos de la ecografía Doppler color y las principales aplicaciones en el manejo reproductivo de bovinos, con enfoque en la funcionalidad del folículo preovulatorio y cuerpo lúteo en vacas sometidas a protocolos de sincronización de estro e inseminación artificial.

## PRINCIPIOS DE LA ECOGRAFÍA MODO DOPPLER

Muchos de los principios de la ecografía Doppler son extensiones de los principios de la ecografía en modo B (Ginther, 2007). Sin embargo, el efecto Doppler es la base de la ecografía Doppler color. El efecto Doppler del sonido es un fenómeno natural reconocido (Maulik, 2005). Las ondas de ultrasonido reflejadas por las estructuras en movimiento, como los glóbulos rojos, difieren en su frecuencia en comparación con las ondas emitidas, lo que resulta en un cambio Doppler (Figura 1). Cuando el cambio es positivo; es decir, cuando la frecuencia de las ondas reflejadas es mayor que la de las ondas emitidas, los glóbulos rojos se mueven hacia el transductor. Cuando las células sanguíneas se alejan del transductor, la frecuencia de las ondas reflejadas es menor que la de las ondas emitidas y el desplazamiento Doppler se vuelve negativo.

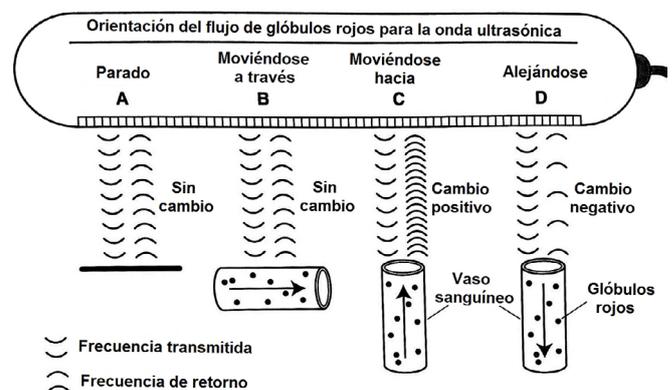


Figura 1. Efecto Doppler del ultrasonido en vasos sanguíneos (adaptado de Ginther, 2007).

La ecografía Doppler proporciona dos enfoques distintivamente diferentes para evaluar el sistema vascular: 1) visualización del flujo sanguíneo en color en una imagen bidimensional en modo B de una estructura de tejido u órgano y 2) análisis espectral Doppler pulsado de velocidad cambiante en un área pequeña de flujo durante un pulso arterial. Las imágenes de flujo en color proporcionan una impresión instantánea del flujo sanguíneo, mientras se escanea un área de interés completa (por ejemplo, folículo, cuerpo lúteo). Con este enfoque, la evaluación visual (subjetiva) en tiempo real permite juzgar el estatus vascular que refleja las capacidades actuales y futuras del tejido u órgano. Cuando se justifica y se puede invertir más tiempo, la evaluación visual se puede confirmar y considerar mediante evaluaciones objetivas de las señales de color (Ginther, 2007). En la secuencia, el presente artículo presentará los mecanismos de evaluación subjetiva a través de la visualización del flujo sanguíneo en color en una imagen bidimensional en modo Ben tiempo real.

### **PARTICULARIDADES PARA OBTENCIÓN DE IMÁGENES DOPPLER COLOR**

Los ecos que producen imágenes de flujo de color son relativamente débiles y, por lo tanto, la sensibilidad para la detección de flujo puede verse afectada por ajustes inadecuados del instrumento (Maulik, 2005). El equilibrio de tres factores relacionados con la calidad, la velocidad de los marcos - FPS, la sensibilidad, y la resolución, se utilizan para producir imágenes agradables con información óptima según lo desee el operador. Sin embargo, debido a las muchas compensaciones en el ajuste de los controles y las diferencias entre los modelos presentes en mercado, es posible que sea necesario consultar el manual del operador y el representante de la compañía.

En el modo Doppler, es posible evaluar a través de los sistemas conocidos como color o power. El sistema Doppler color codifica el cambio de frecuencia Doppler en escala de color: rojo-azul según la dirección del flujo (por consenso, el flujo es rojo si se acerca al transductor y azul si se aleja), y el color es de mayor o menor intensidad del color según la velocidad del flujo sea mayor o menor. Proporciona

por tanto una idea global sobre la presencia y dirección del flujo. El sistema Doppler power analiza el cambio de amplitud y lo codifica en escala de color, es decir, representa la potencia integrada de la señal Doppler en lugar de su cambio de frecuencia. Por tanto, no proporciona información sobre la velocidad y dirección del flujo, no existe fenómeno de solape (aliasing) y es menos dependiente del ángulo Doppler. Únicamente señala la presencia de flujo en una estructura, siendo más sensible para detectar flujo lento que el Doppler coloren los microvasos.

### **APLICACIONES DE LA ECOGRAFÍA MODO DOPPLER EN EL MANEJO REPRODUCTIVO**

La ecografía Doppler color es una herramienta poderosa que se ha utilizado para mejorar la capacidad de detección, monitoreo y predicción en el campo de la fisiología reproductiva. La ecografía Doppler color se ha utilizado para evaluar el flujo sanguíneo en ovario y útero en bovino, y su aplicación es simple y fácil de aplicar en la rutina de manejo reproductivo (De Tarso et al., 2016). Entre las principales aplicaciones de la ecografía Doppler están la evaluación de la selección de folículos (Acosta et al., 2004), la fase anovulatoria durante la fase de transición (Acosta and Miyamoto, 2004), la comparación entre la primera ovulación y las ovulaciones posteriores a lo largo del año (Gastal et al., 2007), la madurez folicular y posterior a la ovulación (Gastal et al., 2006), la tasa de recuperación de ovocitos, calidad y etapa de maduración (Gastal et al., 2007), el desarrollo embrionario en vaquillonas (Siddiqui et al., 2009b), y la ovulación en vacas (Siddiqui et al., 2010); por lo tanto, el uso de estas aplicaciones pueden ayudar a mejorar la tasa de preñez en los protocolos de inseminación artificial. Por ejemplo, la relación positiva entre el flujo sanguíneo del folículo y la calidad y madurez de los ovocitos ha sido descrita (Siddiqui et al., 2009b). El aumento del suministro de sangre en los folículos individuales está estrictamente asociado con el desarrollo folicular y la capacidad de volverse dominante, mientras que la reducción en la vascularización está asociada con la atresia del folículo (Acosta et al., 2003). Por lo tanto, la vascularización del folículo y el suministro de sangre son factores

cruciales para que el folículo adquiera capacidad ovulatoria; y la vascularización del folículo está altamente correlacionada con el suministro de sangre del cuerpo lúteo y la producción de progesterona (De Tarso et al., 2017, 2016). Además, los factores metabólicos, como la insulina y el IGF-1, también se asocian con la retomada de la actividad ovárica en vacas lactantes en el posparto (Cavestany et al., 2009) y con la actividad del flujo sanguíneo en el folículo (Kawashima et al., 2007). Así, la aplicación de la ecografía Doppler color como herramienta en el manejo reproductivo se destaca para evaluar el potencial de fertilidad de los animales sometidos a los protocolos de inseminación artificial y sincronización del estro. Sin embargo, para realizar evaluaciones de flujo sanguíneo en las estructuras ováricas (folículo y cuerpo lúteo) para clasificar vacas aptas para ser inseminadas en protocolos de IATF y realizar diagnóstico de gestación temprano (20-22 días post-IA), es necesario un buen entrenamiento y ecógrafo adecuado.

## EVALUACIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO EN EL FOLÍCULO PEOVULATORIO

El folículo ovárico de los mamíferos desarrolla una doble camada de vasos sanguíneos que consiste en arteriolas y vénulas en la teca externa y una prominente red capilar en la teca interna (Ginther, 2007). Durante el crecimiento del folículo antral, el desarrollo de la red capilar presenta su máxima vascularización en el folículo preovulatorio. Los perfiles hemodinámicos foliculares obtenidos por ecografía Doppler color han demostrado que el diámetro folicular y el flujo sanguíneo de la pared folicular están correlacionados en vaquillonas (Siddiqui et al., 2009b, 2009a). Las señales de flujo sanguíneo dentro de la pared folicular están estrechamente relacionadas con la madurez del folículo preovulatorio (Gastal et al., 2006; Gastal and Gastal, 2012; Ginther et al., 2007) y la calidad de los ovocitos (Ginther et al., 2007; Siddiqui et al., 2009b). Los cambios en el flujo sanguíneo del folículo puede ser un posible indicador del potencial ovulatorio del folículo preovulatorio (Siddiqui et al., 2010) y la fertilidad (Siddiqui et al., 2009a), donde el porcentaje de flujo sanguíneo y el diámetro del folículo preovulatorio fueron mayores en las vaquillonas que quedaron preñadas. El aumento de la perfusión vascular

de la pared del folículo preovulatorio se asoció positivamente con la fertilización in vitro y las tasas de desarrollo embrionario en bovinos (Siddiqui et al., 2009b). Además, el flujo sanguíneo del folículo preovulatorio se correlaciona positivamente con el flujo sanguíneo de CL en vacas lecheras (Bollwein, 2010) y de carne (De Tarso et al., 2017).

La evaluación subjetiva (Figura 2) del folículo dominante puede darse por la determinación del porcentaje (0 – 100%) de la pared folicular con presencia de flujo sanguíneo (De Tarso et al., 2016); o utilizando un sistema de escala (0 – 4) que define diferentes niveles de flujo san-

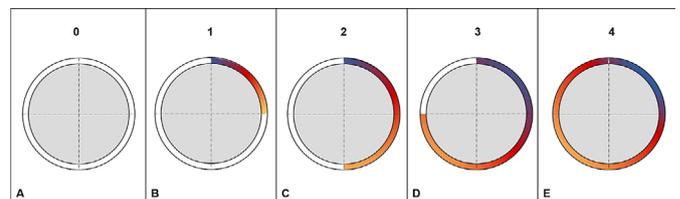


Figura 2. Flujo sanguíneo de la pared folicular de folículos preovulatorios según escore clasificación: 0, 0% (A); 1, 1-25% (B); 2, 26-50% (C); 3, 51-75% (D); y 4, 76-100% (E) de perfusión sanguínea en la pared del folículo (considerando 1 mm de espesor de la pared). La figura demuestra, de una manera didáctica, la suma de los puntos que pueden estar distribuidos en la circunferencia de la pared folicular.

guíneo dentro de cada punto de la escala.

Para la aplicación de la clasificación presentada arriba, es necesario un previo entrenamiento. Nuestro grupo de investigación realizó una evaluación del tiempo de entrenamiento de 4 evaluadores, con diferentes grados de conocimiento previo en respeto a ultrasonografía Doppler color, para estimar la porcentaje de flujo sanguíneo del folículo preovulatorio a través de la clasificación subjetiva (De Tarso et al., 2016). En resumen, el entreno tuvo un periodo de 7 días evaluando 280 videos. Las secciones fueron realizadas utilizando 40 imágenes por sección en una pantalla. La concordancia entre los operadores empezó a mejorar a partir del segundo día de prácticas, con una alta correlación ( $r=0.8$ ) entre las evaluaciones y entre operadores. Además, este estudio demostró que las evaluaciones subjetivas de campo presentaron resultados similares con evaluaciones objetivas de análisis de píxeles en el laboratorio. Por lo tanto, el trabajo demuestra que el entreno bajo orientación adecuada lleva un mayor éxito para obtener resultados consis-

tentes.

Está demostrado que el uso de la ecografía modo B puede auxiliar en la selección de vacas a ser inseminadas de acuerdo con el tamaño del folículo preovulatorio, denominado IATF en bloques (Pfeifer et al., 2017, 2015); los resultados de estos estudios demuestran un aumento de 10% en la tasa de preñez. La vascularización del folículo preovulatorio está asociado a su capacidad ovulatoria (Satheshkumar, 2018) y también se asocia a la capacidad de respuesta a la estimulación exógena y a mayores tasas de implantación de embriones (Lozano et al., 2007). Por lo tanto, evaluaciones del folículo preovulatorio al día 10 del protocolo de Ovsynch, demuestran que las vacas preñadas presentan un mayor diámetro del folículo preovulatorio con mayor flujo sanguíneo en la pared del folículo que las vacas vacías (Varughese et al., 2017). Sin embargo, muchos factores (metabólicos, hormonales, térmicos) pueden influenciar la calidad, tamaño y flujo sanguíneo del folículo preovulatorio (Jitjumnong et al., 2020). Por eso, trabajos evaluando la eficacia de seleccionar los animales con folículos saludables que presentan potencial ovulatorio, previo de la inseminación artificial, con el auxilio de la ecografía color Doppler aún son necesarios para determinar la mejora en la eficiencia de los protocolos de sincronización de celo e inseminación en tiempo fijo.

### EVALUACIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO EN EL CUERPO LÚTEO:

El cuerpo lúteo es una estructura dinámica que necesita de un largo sistema vascular para un rápido desarrollo y posterior regresión. Después de la ovulación, la membrana basal entre las capas de células de granulosa y teca se rompen y ocurre la invasión de pequeños vasos sanguíneos de la teca interna para el desarrollo del cuerpo lúteo, siendo una de las estructuras más vascularizadas en el cuerpo (Ginther, 2007). Por lo tanto, el tamaño y flujo sanguíneo del folículo preovulatorio está íntimamente relacionado con el tamaño, capacidad vascular y producción de progesterona en la formación del cuerpo lúteo (De Tarso et al., 2017). Esta relación se hace importante debido a su potencial para mantener los niveles de progesterona adecuado para manutención de

la concepción en bovinos (Acosta et al., 2003; Matsui and Miyamoto, 2009). En el proceso de luteólisis fisiológica, el cuerpo lúteo presenta, a los 17-18 días posterior a la ovulación, un aumento del flujo sanguíneo seguido por una reducción de la concentración de progesterona plasmática y de la área de flujo sanguíneo del CL dentro de 24h (Miyamoto et al., 2006); este proceso precede la reducción del diámetro del cuerpo lúteo. Sin embargo, un cuerpo lúteo con área menor de 2cm<sup>2</sup> en el final de la fase de diestro tiene menor capacidad de producción de progesterona y mayor riesgo de sufrir luteólisis (Pugliesi et al., 2014). Debido a estas características presentes en el proceso fisiológico de luteólisis, es posible utilizar la ecografía Doppler color para realizar el diagnóstico de reducción de funcionalidad luteal lo cual caracteriza vacas vacías tan precoz de los 19 días post inseminación artificial.

La evaluación subjetiva (Figura 3) puede darse por la determinación del porcentaje (0 – 100%) de la área total del cuerpo lúteo con perfusión sanguínea (De Tarso et al., 2017); o utilizando un sistema de escala (0 – 4) que define diferentes niveles de flujo sanguíneo dentro de cada punto de la escala. Además de la clasificación categórica de flujo sanguíneo del cuerpo lúteo, es importante considerar su área total. Según definición de (Pugliesi et al.,

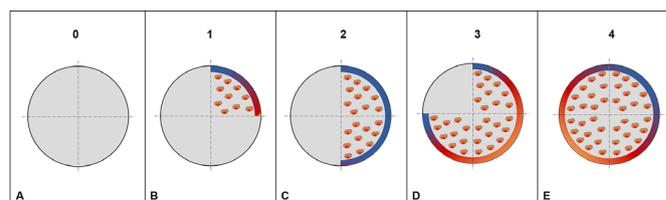


Figura 3. Flujo sanguíneo del cuerpo lúteo según escora clasificación: 0, 0% (A); 1, 1-25% (B); 2, 26-50% (C); 3, 51-75% (D); y 4, 76-100% de perfusión sanguínea (E). La figura demuestra, de una manera didáctica, la suma de los puntos que pueden estar distribuidos en la área total del cuerpo lúteo.

2014), las vacas vacías son clasificadas por la detección de un CL con área <2mm<sup>2</sup> presentando un flujo sanguíneo ≤25%.

Para determinar el uso en rutina de manejo reproductivo, una serie de trabajos (Baruselli et al., 2018; Pellegrino et al., 2018; Mota et al., 2018; Simoes et al., 2018; Bisinotto et al., 2018; Abreu et al., 2019; Elliff et al., 2019; Perez et al., 2019; Silva et al., 2019; Lorenti et al., 2019) tiene evaluado la eficacia de la ecografía Do-

Doppler color para el diagnóstico de gestación entre los días 20 y 22 post inseminación artificial. La precisión para diagnosticar vacas vacías puede variar entre estos días, con una sensibilidad entre 90-100% para el teste (Simoes et al., 2018). Los diagnósticos realizados en el día 22 presentan 100% de sensibilidad para detectar las vacas vacías. El mismo concepto de evaluación del CL presentado en la Figura 3 se aplica para la selección de receptoras en programas de transferencia de embriones. Sin embargo, la evaluación del CL en las receptoras ocurre generalmente 7 días postovulación (Pugliesi et al., 2019).

En la búsqueda por reducir los intervalos entre inseminaciones en programas de IATF, investigadores están evaluando la eficiencia de resincronizaciones super precoz, empezando a los 14 días post inseminación artificial de vacas sin conocimiento del estatus gestacional (Baruselli et al., 2018; Vieira et al., 2014). En el estudio de Vieira et al., (2014), al día 14 post-IA, todos los animales reciben (día 0 nuevo protocolo) un dispositivo intrauterino de progesterona, o progesterona intramuscular, por 8 días; en el día 8 del protocolo (día 22 post 1ª IA), ocurre la retirada del dispositivo y la evaluación del CL (diagnóstico de gestación) con auxilio de la ecografía en modo Doppler. Las vacas que son diagnosticadas como vacías (CL con área <2mm<sup>2</sup> presentando un flujo sanguíneo ≤25%) en este diagnóstico (día 8 del protocolo o día 22 post 1ª IA), reciben prostaglandina y ciproterona de estradiol, y la inseminación es realizada al día 10 del protocolo (día 24 post 1ª IA). El uso de la ecografía Doppler color se hace fundamental en la aplicación de estas biotecnologías de la reproducción y en el auxilio para comprender el efecto del uso de diferentes hormonas durante la fase inicial de implantación de la gestación. El diagnóstico de gestación precoz, por funcionalidad luteal, utilizando la ecografía Doppler color busca reducir el intervalo entre inseminaciones de protocolos de sincronización. En consecuencia, este manejo aumenta el número de animales preñados en un corto periodo de tiempo, concentra el manejo de parto y estandariza los terneros.

## CONSIDERACIONES FINALES

La ultrasonografía en modo Doppler co-

lor demuestra ser una herramienta promisor para el aumento de la eficiencia reproductiva cuando aplicados en asociación con protocolos de sincronización e inseminación artificial. Sin embargo, es importante resaltar que el uso de la ecografía Doppler color aumenta el tiempo de diagnóstico y necesita entrenamiento adecuado previo a la aplicación de la técnica en el manejo reproductivo. Así como la ecografía en modo B trajo beneficios para la producción animal, el desarrollo de la tecnología irá facilitar la producción de equipos con la función de modo Doppler color más baratos y con imágenes de alta calidad, aumentando su aplicación en el manejo reproductivo de los bovinos. No obstante, es necesario estandarizar el criterio de evaluación de la función folicular y luteal para tener una aplicación práctica y replicable entre los técnicos a nivel de campo. Para eso, estudios son necesarios para evaluar la técnica frente a diferentes protocolos de sincronización y facilitar la comunicación, difusión y entendimiento del potencial de la técnica en el manejo reproductivo de bovinos.

## REFERENCIAS

- Acosta, T.J., Gastal, E.L., Gastal, M.O., Beg, M.A., Ginther, O.J., 2004. Differential blood flow changes between the future dominant and subordinate follicles precede diameter changes during follicle selection in mares. *Biol. Reprod.* 71. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.027896>
- Acosta, T.J., Hayashi, K.G., Ohtani, M., Miyamoto, A., 2003. Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reproduction* 125. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1250759>
- Acosta, T.J., Miyamoto, A., 2004. Vascular control of ovarian function: Ovulation, corpus luteum formation and regression, in: *Animal Reproduction Science*. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.022>
- Baruselli, P.S., Ferreira, R.M., Sá Filho, M.F., Bó, G.A., 2018. Review: Using artificial insemination v. natural service in beef herds. *Animal*. <https://doi.org/10.1017/S175173111800054X>

Bollwein, H., 2010. Declining fertility: A pro-

blem of high performance cattle? / Abnehmen- de Fruchtbarkeit: Ein Problem unserer Hochle- situngsrunder? *Milchpraxis* 48, 152–155.

Bollwein, H., Baumgartner, U., Stolla, R., 2002. Transrectal Doppler sonography of ute- rine blood flow in cows during pregnancy. *Ther- iogenology* 57. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00706-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00706-9)

Bollwein, H., Heppelmann, M., 2016. Ul- trasonographic Doppler Use for Female Re- production Management. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 32, 149–164. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2015.09.005>

Bollwein, H., Meyer, H.H.D., Maierl, J., We- ber, F., Baumgartner, U., Stolla, R., 2000. Trans- rectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. *Therigeno- logy* 53, 1541–1552. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00296-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00296-X)

Cavestany, D., Viñoles, C., Crowe, M., La Manna, A., Mendoza, A., 2009. Effect of pre- partum diet on postpartum ovarian activity in Holstein cows in a pasture-based dairy system. *Anim. Reprod. Sci.* 114, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.08.007>

De Tarso, S.G.S., Gastal, G.D.A., Bashir, S.T., Gastal, M.O., Apgar, G.A., Gastal, E.L., 2017. Follicle vascularity coordinates corpus lu- teum blood flow and progesterone production. *Reprod. Fertil. Dev.* 29. <https://doi.org/10.1071/RD15223>

De Tarso, S.G.S., Ishak, G.M., Gastal, G.D.A., Bashir, S.T., Gastal, M.O., Gastal, E.L., 2016. Novel prospects for evaluation of follicle wall blood flow using color-Doppler ul- trasonography. *Anim. Reprod.* 13. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR806>

Gastal, E.L., Gastal, M.O., 2012. Clinical use of B-mode and color-Doppler ultrasonography to evaluate preovulatory follicle status in ma- res, in: *Proceedings of the Society for Therio- genology 2012 Annual Conference.*

Gastal, E.L., Gastal, M.O., Donadeu, F.X., Acosta, T.J., Beg, M.A., Ginther, O.J., 2007. Temporal relationships among LH, estradiol,

and follicle vascularization preceding the first compared with later ovulations during the year in mares. *Anim. Reprod. Sci.* 102. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.04.003>

Gastal, E.L., Gastal, M.O., Ginther, O.J., 2006. Relationships of changes in B-mode echotexture and colour-Doppler signals in the wall of the preovulatory follicle to changes in systemic oestradiol concentrations and the effects of human chorionic gonadotrophin in ma- res. *Reproduction* 131. <https://doi.org/10.1530/rep.1.01011>

Ginther, O.J., 2007. Ultrasonic imaging and animal reproduction: Color-Doppler ultrasono- graphy. Cross Plains, WI Equiservices Publ.

Ginther, O.J., Gastal, E.L., Gastal, M.O., Beg, M.A., 2007. Effect of prostaglandin F<sub>2α</sub> on ovarian, adrenal, and pituitary hormones and on luteal blood flow in mares. *Domest. Anim. Endocrinol.* 32. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2006.04.006>

Heppelmann, M., Krüger, L., Leidl, S., Bo- llwein, H., 2013. Transrectal Doppler sonogra- phy of uterine blood flow during the first two weeks after parturition in Simmenthal heifers. *J. Vet. Sci.* 14, 323–327.

Jitjumnong, J., Moonmanee, T., Sudwan, P., Mekrirat, R., Osathanunkul, M., Navanukraw, C., Panatuk, J., Yama, P., Pirokad, W., U-krit, W., Chaikol, W., 2020. Associations among thermal biology, preovulatory follicle diameter, follicular and luteal vascularities, and sex ste- roid hormone concentrations during preovula- tory and postovulatory periods in tropical beef cows. *Anim. Reprod. Sci.* 213. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106281>

Kawashima, C., Fukihara, S., Maeda, M., Kaneko, E., Amaya, C., Matsui, M., Shimizu, T., Matsunaga, N., Kida, K., Miyake, Y., Schams, D., Miyamoto, A., 2007. Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-par- tum in high-producing dairy cows. *Reproduc- tion* 133, 155–163. <https://doi.org/10.1530/REP-06-0046>

Lozano, D.H.M., Frydman, N., Levailant,

- J.M., Fay, S., Frydman, R., Fanchin, R., 2007. The 3D vascular status of the follicle after HCG administration is qualitatively rather than quantitatively associated with its reproductive competence. *Hum. Reprod.* 22. <https://doi.org/10.1093/humrep/del472>
- Matsui, M., Miyamoto, A., 2009. Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound : Practical use for reproductive management in the cow. *Vet. J.* 181, 232–240. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.02.027>
- Maulik, D., 2005. Physical principles of doppler ultrasonography, in: *Doppler Ultrasound in Obstetrics and Gynecology: 2nd Revised and Enlarged Edition.* [https://doi.org/10.1007/3-540-28903-8\\_2](https://doi.org/10.1007/3-540-28903-8_2)
- Miyamoto, A., Shirasuna, K., Hayashi, K.-G., Kamada, D., Kawashima, C., Kaneko, E., Acosta, T.J., Matsui, M., 2006. 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.* 52, 153–160. <https://doi.org/10.1262/jrd.17087>
- Pfeifer, L.F.M., Castro, N.A., Melo, V.T.O., Neves, P.M.A., Cestaro, J.P., Schneider, A., 2015. Timed artificial insemination in blocks: A new alternative to improve fertility in lactating beef cows. *Anim. Reprod. Sci.* 163. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.10.002>
- Pfeifer, L.F.M., Castro, N.A., Neves, P.M.A., Cestaro, J.P., Schneider, A., 2017. Comparison between two estradiol-progesterone based protocols for timed artificial insemination in blocks in lactating Nelore cows. *Anim. Reprod. Sci.* 181. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.03.025>
- Pugliesi, G., Bisinotto, D.Z., Mello, B.P., Lahr, F.C., Ferreira, C.A., Melo, G.D., Bastos, M.R., Madureira, E.H., 2019. A novel strategy for resynchronization of ovulation in Nelore cows using injectable progesterone (P4) and P4 releasing devices to perform two timed inseminations within 22 days. *Reprod. Domest. Anim.* 54, 1149–1154.
- Pugliesi, G., Miagawa, B.T., Paiva, Y.N., França, M.R., Silva, L.A., Binelli, M., 2014. Conceptus-induced changes in the gene expression of blood immune cells and the ultrasound-accessed luteal function in beef cattle: How early can we detect pregnancy? *Biol. Reprod.* 91. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.121525>
- Satheshkumar, S., 2018. Peri-follicular blood flow in the follicle from which ovulation occurs in cows. *Anim. Reprod. Sci.* 198. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.09.014>
- Sharma, A., Singh, M., Abrol, A., Soni, T., 2019. Doppler sonography of uterine blood flow at mid-oestrus during different degree of clinical endometritis in dairy cows. *Reprod. Domest. Anim.* 54, 1274–1278.
- Siddiqui, M.A.R., Almamun, M., Ginther, O.J., 2009a. Blood flow in the wall of the preovulatory follicle and its relationship to pregnancy establishment in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 113. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.07.008>
- Siddiqui, M.A.R., Ferreira, J.C., Gastal, E.L., Beg, M.A., Cooper, D.A., Ginther, O.J., 2010. Temporal relationships of the LH surge and ovulation to echotexture and power Doppler signals of blood flow in the wall of the preovulatory follicle in heifers. *Reprod. Fertil. Dev.* 22. <https://doi.org/10.1071/RD09251>
- Siddiqui, M.A.R., Gastal, E.L., Gastal, M.O., Almamun, M., Beg, M.A., Ginther, O.J., 2009b. Relationship of vascular perfusion of the wall of the preovulatory follicle to in vitro fertilisation and embryo development in heifers. *Reproduction* 137. <https://doi.org/10.1530/REP-08-0403>
- Varughese, E.E., Brar, P.S., Ghuman, S.S., 2017. Vascularization to preovulatory follicle and corpus luteum—a valuable predictor of fertility in dairy cows. *Theriogenology* 103, 59–68.
- Viana, J.H.M., Arashiro, E.K.N., Siqueira, L.G.B., Ghetti, A.M., Areas, V.S., Guimarães, C.R.B., 2013. Doppler ultrasonography as a tool for ovarian management. *Anim. Reprod.* 10.
- Vieira, L.M., Sá Filho, M.F. de, Pugliesi, G., Guerreiro, B.M., Cristaldo, M.A., Batista, E. de

O.S., Freitas, B.G., Carvalho, F.J., Guimaraes, L.H.C., Baruselli, P.S., 2014. Resynchronization in dairy cows 13 days after TAI followed by pregnancy diagnosis based on corpus luteum vascularization by color doppler. Annu. Meet. Brazilian Embryo Technol. Soc.