

ד"ח מדעי תלת שנתי מסכם
פרויקט 382-0012 (שנים 2017 - 2015)

**הנושא: ביסוס שיטת הדופלר בשחלה וברחם ואפיון שינויים
פיזיולוגיים והורמונאליים.**

**Using the Doppler index as methods to characterize the
physiological and hormonal changes in ovarian and uterus.**

מוגש למועצה לענף החלב ע"י

ד"ר חן הניג – ווטרינרית המכון לבעלי חיים. ווטרינרית מנהל המחקר החקלאי. עובדת תקן מכון
לבע"ח. hen@volcani.agri.gov.il

ד"ר ערן גרשון – חוקר פוריות המכון לבעלי חיים, המחלקה לבקר, מרכז וולקני. עובד תן מכון
לבע"ח.

ד"ר יוסט דוכס - רופא ב " חקלאית " הדמית - דופלר במשק

Dr. Honig Hen– Dept. veterinary, Institute of Animal Science, ARO, P.O.B. 6, Bet-
Dagan, 50250, Israel. E. mail: hen@volcani.agri.gov.il

Dr. Gershon Eran – Dept. of Ruminants Sciences, Institute of Animal Science, ARO,
Israel

Dr. Dukas Joost – “Hachaklait” Mutual Society for Cattle Insurance &
Veterinary Services in Israel Ltd.

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לאור התוצאות של הניסויים משלושת השנים ניתן לראות
ששינוי בזרימת הדם הינו מדד למצב פוריות הפרה במשק ועל יכולת הפוריות ברגע הבדיקה וכן
העתיד לבוא. כלי זה יכול לסייע לרופאים באזורים כאשר הם סובלים מעומס חום ולקדם את
רפואת הפרט.

חתימת החוקר הראשי: הניג חן

מבוא ותיאור הבעיה

עומס חום נחשב כאחד הגורמים המדכאים הן ייצור חלב והן פוריות בפרות חלב. דרך ההתמודדות הנפוצה והמקובלת כיום בארץ היא משטר צינון המבוסס על 5 עד 7 פרקי זמן הפרוסים על פני יממה, כשכל אחד אורך כ- 30 עד-45 דקות שבהן הפרות נמצאות בחצר צינון יעודית. בתוך פרק הזמן הזה, מתקיימים מחזורים קבועים בני 5 דקות הכוללים 30 שניות של המטרה עילית ומיד לאחר מכן 4.5 דקות של איורור מסיבי. שיטת צינון זאת תורמת בשמירה על רמת יצרנות גבוהה ושמירה על נורמותרמיה בחודשי הקיץ החמים [2].

נתונים מספר העדר הישראלי מעידים כי בשנים האחרונות, שיעור התעברות מהזרעה ראשונה של פרות יורד מ-45% בחורף, ל-17% בפרות לא מצוננות בקיץ. בארץ, משנת 2000, אנו עדים לירידה של 6.2%-ו-14.7% בשיעור ההתעברות במבכירות ובפרות בהתאמה בתקופת הקיץ. פגיעה בשיעור של כ-10-15% ביצור החלב ורכיביו בקיץ עקב צינון ברמה לא מיטבית נצפתה בעבודות שנעשו לאחרונה בבית דגן ובעקבותיהם הומלץ לצנן את הפרות בחצר צינון בתכיפות של 8 צינונים בני 25 דקות לפחות כל אחד, למניעת הפגיעה ביצור (Honig et al. 2012; Miron et al. 2008). בניסיונות קצרי טווח אלו לא נבחנה השפעת הצינון על הפוריות. במקביל, מחקרים שנעשו בשנים האחרונות, מראים כי רפתות המאופיינות בגנטיקה איכותית ותנובות גבוהות, נמצאות בנסיגה בביצועי הפוריות, ונוצר קונפליקט בין מדדי היצור לביצועי פוריות. כמו כן, בשנים האחרונות, קיימת עלייה מסויימת ב מספר מופעים הקשורים במערכת הרבייה, ביניהם אנדומטריטיס, שהראה עלייה בתדירות המופע בתוך העדר הישראלי מ-38.1% ל-46% במבכירות ומ-25.5% ל-30.1% בפרות מתחלובה שניה ומעלה [3]. הסבר אפשרי לעלייה זו, הוא העומס המטבולי שפרת החלב הישראלית נתונה בו. לאורך העשור האחרון, תנובת החלב היומית של הפרה הישראלית עלה ממוצע של 40 ליטרים למוצע של כ-50 ליטרים. תנובת חלב גבוהה כל כך, חושפת את הפרה לעומס מטבולי אדיר. בנוסף, שינויי האקלים וההתחממות הגלובלית, גרמו לעלייה בעקת החום אליה הפרות חשופות במשך הקיץ.

השילוב בין שני פקטורים אלה, העלייה בעומס המטבולי והעלייה בעקת החום, עשוי להיות הגורם העיקרי לעלייה בהיארעות של אנדומטריטיס בעדר הבקר לחלב הישראלי. מחקרים שנערכו בעבר, הראו כי עקת חום אפילו לזמן קצר, פוגעת בתהליכים רבייתיים ובכללם: שיבוש בהתפתחות הזקיקים והגוף הצהוב, שיבוש תהליך הסטרדיאוגנזה בשחלה, פגיעה באיכות הביציות, פגיעה בהתפתחות העובר, הפלות וספיגת עוברים [4,5].

שיבוש אפשרי במועד הביוץ מתבניתו הרגילה בעקבות חשיפה לעומס חום, יכול להוות אף הוא גורם מרכזי בירידה בשיעורי ההתעברות בחודשי הקיץ [5]. יתכן וזיהוי של שינוי בזרימת הדם לשחלה, לזקיקים ולגוף הצהוב יאפשר זיהוי ואיתור שינויים במועדי הביוץ.

1.2 אולטרסאונד ומדד הדופלר

אולטרסאונד רקטלי פותח ככלי מחקר וכלי עזר ממשקי בכל הקשור למערך הרבייה ברפת החלב. מלבד היתרון הבולט של הבדיקה בכך שאינה ויגנילית (ולכן איננה נחשבת פולשנית) ואינה כרוכה במישוש העשוי לגרום נזק, השימוש באולטרסאונד מאפשר קבלת נתונים בזמן אמת על שינויים

מורפולוגיים של השחלה, מעקב ויזואלי (בניגוד לפלפציה) ומדויק יותר על התפתחות העובר וכן מספק מידע חדש על הפיזיולוגיה של מערכת הרבייה במהלך ההריון ובזמנים שונים של המחזור המיני בפרה [13].

השימוש ההולך וגובר במדד ה-**Color Doppler**, ב-15 השנים האחרונות, מקנה יכולת לאמוד את עוצמת הפרפוזיה וכמות הדם המגיעה לאיבר מסויים ומכך השלכה על רמת תפקודו של אותו איבר. האולטרסאונד הרקטלי בשילוב עם טכניקת ה-**Color Doppler** יכול להיות שימושי כאשר רוצים לחקור ולאמוד את זרימת הדם הגניטלית של הפרה במטרה לזהות שינויים באברי המין לאורך המחזור המיני. הוכח כי קיימים שינויים אופייניים בזרימת הדם לגוף הצהוב במהלך המחזור המיני שנמצאים במתאם גבוה לשינויים ברמות הפרוגסטרון בדם [6,7]. מחקר שעשה שימוש בטכניקת ה-**Color Doppler**, הראה כי קיימת דווקא עלייה בזרימת הדם לגוף הצהוב בתחילת שלב הלוטאוליזה בפרה [8]. קבוצה אחרת הראתה שזרימת הדם לזיקים בוגרים מתגברת בקצב מהיר יותר סביב שיא ה-LH והביוץ [9-11]. מחקרים אחרים השתמשו ב-**Color Doppler** כדי להדגים את השינויים שמתרחשים בזרימת הדם בשחלה במהלך המחזור המיני של הפרה [12]. המחקרים הללו הראו שאספקת הדם לזיקים נמצאת ביחס ישר לקצב גדילת הזיקים, לניווט שלו או לחלופין לביוץ ולמעשה ניתן להשליך ממנה לגבי המצב הפיזיולוגי הנוכחי של הזיקים [13]. התפתחות מואצת של כלי דם בשכבת תאי התקה המקיפה את הממברנה הבזאלית ואת שכבת תאי הגרנולוזה של הזיקים המתפתח [14]. מחקר אחר גילה שהאפיון ההיסטולוגי המרכזי של הזיקים הדומיננטי הוא רמת הווסקולריזציה המואצת בשכבת תאי התקה בהשוואה לזאת של זיקים אטרטיים [14,15].

בשנים האחרונות מחקרים הראו שבעזרת הוספת מדד הדופלר לבדיקת האולטרסאונד ניתן לאמוד את קצב הזרימה וכמות הדם המגיעה לרחם ובכך ללמוד על הדינאמיקה של התהליכים השונים המתרחשים ברחם כגון: השרשת עובר, הריון בשלבים השונים והתכנסות הרחם לאחר המלטה (2-4), להעיד על מוכנות הרחם להריון ויכולת השרשת העובר (5) ולאפשר לזהות את חלון ההזדמנויות להשרשת העובר ותחילת ההריון (4). ובכלל ללמוד על השינויים ההמודינמיים שמתרחשים ברחם (6)(7).

זרימת הדם בתחילת ההריון משפיעה על יצירת כלי הדם (2). זרימת הדם במהלך ההריון משתנה בהתאם לגדילת העובר והעלייה בהזנה דרך השליה (8). עקת חום אפילו לזמן קצר, פוגעת בתהליכים רבייתיים בכללם פגיעה בהתפתחות העובר, הפלות וספיגת עוברים (9). שינויים בעמידות העובר והתפתחותו עלולים להיות מושפעים מחשיפת האם לעקת חום בתחילת ההריון, שהוא השלב החשוב גם ליצירת כלי הדם הן בשלייה והן בעובר (10). מחקרים אלה מעידים כי מדידת הפרמטרים שונים של זרימת הדם במהלך שלבי ההריון השונים, ביחוד בתקופה החמה, חשובים למעקב אחר התפתחות הריון תקין, שמירה על בריאות הפרה ההריונית והמלטת ולד חי ובריא.

לבסוף, לחשיבותו של מדד הדופלר לאמוד את מוכנות הרחם להשרשת העובר ותחילת הריון, מדידת זרימת הדם בעזרת שיטת הדופלר של עורק הרחם יכולה לשמש במקרים של מחלות של לאחר ההמלטה כגון: דלקת רחם או עצירת שליה משתנה עם הופעת ועוצמת התחלואה (11, 3).

השימוש במדד הדופלר הולך וצובר תאוצה בשנים האחרונות בתחום פוריות לרוב. מדד זה יכול לספק לנו מידע רב כגון: מוכנות של הפרה להזרעה, המוכנות להשרשת העובר, התקדמות ההריון כמו גם תפקוד השלייה ואספקת הדם לעובר (12, 13).

מטרת המחקר הנוכחי הייתה להעריך ולאמוד את זרימת הדם המשתנה לזיקי במהלך מחזור מיני מלא בפרת חלב ישראלית בחודשי הקיץ, תחת שני משטרי צינון שונים. בזרימת הדם ברקמה הן מבחינת כיוון זרימת הדם והן מבחינת עוצמת הזרימה. את המידע שמתקבל בצבע, ניתן לכמת ע"י חישוב אחוז הרקמה שנצבעה, או לחלופין ע"י תוכנת מחשב המתבססת על מספר פיקסלים צבועים באזור מוגדר בתמונה. בעזרת הוספת מדד ה-Color Doppler לבדיקת האולטרסאונד, ניתן לאמוד את קצב וכמות הדם המגיעה לזיקי השחלה ובכך למשל לנסות ולהשוות את קצב זרימת הדם לזיקי לעומת קצב הגדילה, הניוון, והחריגה שלו. (S.M. Pancarci 2011).

בנוסף, מדד זה יכול לעזור בקביעת הבראת הרחם השוואת קצב זרימת הדם בין פרה שחולה ממצבים פתולוגיים כמו דלקת רחם קלינית, ואולי אף מדד וסמן לדלקות תת קליניות.

תקציר מהלך הניסוי

ניסויי השנה הראשונה:

מטרת המחקר היתה לאפיין את זרימת הדם לזיקי הדומיננטי והפרהאבולטורי בשחלה, לאורך המחזור המיני, בפרות חלב ישראליות. בנוסף, נבדקה ההשפעה של משטרי צינון שונים בתקופת הקיץ, על זרימת הדם לזיקי הדומיננטי.

למטרה זו, 12 פרות הולשטיין ישראליות, מתחלובה שנייה ומעלה, ברפת בית דגן בחודשי הקיץ (יולי-אוגוסט) חולקו אקראית לשתי קבוצות: קבוצה אחת קיבלה את מספר הצינונים הרגיל (חמישה צינונים ביום, 5CS) ואילו הקבוצה השנייה נחשפה למשטר צינונים מוגבר של שמונה צינונים ביממה (8CS).

זרימת הדם לזיקי הדומיננטי וקוטר הזיקי נמדדו ע"י מכשיר אולטרסאונד, תוך שימוש בשיטת הדופלר, מידי יום לאורך כל המחזור המיני ובנוסף נלקחה דגימת דם להערכת הפרופיל הורמונאלי.

ניסויי השנה השנייה:

בשנה השנייה פרות מתחלובה שנייה ומעלה סונכרנו בקיץ ובחורף, ובעזרת שיטת האולטרסאונד משולבת בדופלר נבדקו בעורק הרחם ה-RI (Resistance Index), נפח הדם, ה-PI (Pulsatility Index), מהירות זרימת הדם וקוטר עורק הרחם לאורך המחזור עד זיהוי גוף צהוב של המחזור העוקב. לאחר שביססנו את שיטת הדופלר למדידת זרימת הדם לעורק הרחם לאורך מחזור הייחום.

ניסויי השנה השלישית:

עקת חום גורמת לירידה בתאבון, ירידה בצריכת מזון, מאזן אנרגיה שלילי ושינוי בהפרשת הורמון הגרלין. גרלין הינו חלבון פפטידי של מוח – מערכת עיכול ומופיע בשתי צורות. בשלב ראשון אפיינו את הפרשת הגרלין בעונת החורף ובעונת הקיץ לאורך המחזור. עוד בחנו את השפעת

מספר ההמלטות על ההפרשה. דם נאסף מ 10 פרות, מבכירות ופרות מהמלטה שניה ומעלה, בזמן המחזור, בעונה החמה העונה הקרה. נמדדה רמת ה acylated (אחת משתי תצורות הגרלין) וגרלין כולל בדוגמאות דם.

דיון ומסקנות

תוצאות המחקר שלנו מצביעות על כך שמשטר צינונים אינטנסיבי עשוי לתרום ולו רק קצת, בשיכון ההשפעות המזיקות של עקת החום על אורך המחזור המיני התקין של הפרה, ככל הנראה על ידי שיפור בזרימת הדם לזיקה הדומיננטי. זרימת דם מוגברת לזיקה הדומיננטי מובילה לקיצור אורך המחזור המיני. בקיצור זה, טמון הפוטנציאל לשיפור ביצועי הפוריות של פרת החלב בעונה החמה. מחקר נוסף דרוש בכדי לקבוע את האפקט של משטרי הצינון השונים על תפקודה של השחלה ועל ביצועי הפוריות של פרות חלב.

בנוסף, בעבודה זו ביססנו וכיילנו את מדידת זרימת הדם לעורק הרחם באמצעות שיטת האולטראסאונד המשולבת עם מדד הדופלר בפרות לחלב הן לאורך המחזור המיני והן בתקופה שלאחר ההריון, מיום 8 לאחר המלטה ועד ליום 65 שזהו בערך הזמן של הזרעה ראשונה לאחר ההריון הקודם. זמן זה הינו קריטי, היות וזה הזמן שבו הרחם מתאושש ומחלים מההמלטה שעברה ומכין עצמו להזרעה והריון נוספים. בנוסף, בעבודה זו השווינו את זרימת הדם בעורק הרחם בין החורף והקיץ. מצאנו הבדלים בפרמטרים שונים של זרימת הדם, כגון התנגדות כלי הדם, מהירות זרימת הדם ונפח הדם הזורם בעורק. יתכן וההבדלים בפרמטרים אלה בין החורף לבין הקיץ, שבו הפרות סובלות מעקת חום מהווים גורמים נוסף לפוריות הירודה של פרות לחלב בזמן העונה החמה.

בנוסף, במחקר הנוכחי, הדגמנו שלסוג משטר הצינונים יש השפעה על זרימת הדם לזיקה הדומיננטי, תוך שימוש באולטרסאונד בשילוב עם שיטת ה- Color Doppler. השילוב בין שתי השיטות הללו שימש בעבר לגילוי החשיבות של זרימת הדם לזיקה הדומיננטי וההשפעה על התפתחותו [10,17,18] וכן להבנה של השפעת זרימת הדם על התפתחות הגוף הצהוב, תפקודו וניוונו [10,11,19,20]. המחקר הנוכחי תומך בממצאים אלו ויותר מכך אף מציע שבעזרת מדד הדופלר ניתן יהיה לנטר התפתחות של זקיקים וזיהוי של ביוץ בזמן עקת חום, כמו גם לצורך הערכה של יעילות ממשק הצינונים ברפת.

עקת חום, אפילו לפרק זמן קצר, פוגעת בהרבה תהליכים ותיפקודים רבייתיים, לרבות התפתחות זקיקים בשחלה, סטרואידוגנזה, ופגיעה באיכות הביצית [5]. בנוסף, ההשפעה של עקת חום על הזיקה הפרהאבולטורי עלולה לשבש את תהליך הביוץ עצמו ולהביא לחוסר יכולת לתזמן את סימני הייחום יחד עם זמן הביוץ ומועד ההזרעה במהלך חודשי הקיץ [4,5]. עובדה זו יכולה להוות את אחת הסיבות העיקריות לביצועי הפוריות הירודים יחסית בתקופת הקיץ בקרב פרות חלב בארץ [5]. המחקר הנוכחי מציע את מדד הדופלר ככלי מחקרי שיוכל להיות שימושי במחקרים נוספים בתחום בדרך למציאת פתרון לבעיית הפוריות המדוברת. על ידי מדידה של זרימת הדם לשחלה ולזיקה הפרהאבולטורי תוך שימוש במדד הדופלר, ניתן לחזות במדויק יותר את מועד הביוץ הצפוי.

ממצא נוסף שהמחקר שלנו העלה, היה שבפרות שנחשפו לשמונה צינונים ביום, זרימת הדם לזקיק הפרהאבולטורי הייתה גבוהה יותר, גל הזקיקים הראשון היה קצר יותר והמחזור המיני כולו היה קצר יותר באופן מובהק בהשוואה לפרות שצוננו רק חמש פעמים ביום. כבר הוכח בעבר שעקת חום מקושרת להגחה מוקדמת יותר (ב-2-3 ימים) של זקיק דומיננטי מתוך גל הזקיקים השני [21,22] ובהתאם גם "תקופת דומיננטיות" ארוכה יותר [21]. תופעות אלו, של הגחה מוקדמת של זקיק דומיננטי ובכך למעשה "תקופת דומיננטיות" ארוכה יותר, עשויות להוביל בצורה ישירה לביוץ של זקיק מבוגר יותר, כלומר, בייצית מבוגרת יותר ומכאן ירידה בפוריות של פרת החלב המחזורית. בנוסף, נמצא מתאם שלילי בין משך זמן הדומיננטיות של הזקיק הפרהאבולטורי לבין פוריות הפרה [23]. למרות העובדה שבמחקר הנוכחי פרות מקבוצת השמונה צינונים הראו הגחה מוקדמת יותר של זקיק דומיננטי מגל הזקיקים השני, המשך הכולל של המחזור המיני שלהן היה קצר יותר וכך למעשה לא נוצר מצב של "תקופת דומיננטיות" ארוכה ונמנע ביוץ של זקיק מבוגר. הממצא שלנו שמשך המחזור המיני של הפרות בקבוצת 8CS היה קצר יותר, בהחלט נתמך ע"י הנתונים של רמות הפרוגסטרוגן בדם שמראים ירידה מוקדמת יותר בפרוגסטרוגן בדמן של הפרות מקבוצת 8CS לעומת הפרות בקבוצת 5CS. תופעה זו נראתה כבר בעבר במחקר קודם [24].

בהתבסס על כל הנתונים הללו, אנו משערים שמחזור מיני קצר יותר יכול לתרום בשיפור הפוריות של פרות חלב הנתונות לעקת חום בתקופת הקיץ.

אחת הסיבות האפשריות להופעת מחזור ארוך יותר בפרות מקבוצת 5CS לעומת קבוצת 8CS יכולה להקשר עם מעורבותם של קורטיזול ואדרנוקורטיקורופין (ACTH), הורמונים מתווכי עקה. בעבר כבר הדגימו כי עקת חום הביאה לעליה בריכוזי קורטיזול בדם ולהפרשה מוגברת של ACTH [25,26]. בנוסף, פרות אשר טופלו ב-ACTH, הראו עלייה ברמות קורטיזול בדם וכמו כן בהתארכות משמעותית של השלב הלוטאלי במחזור המיני [27-29]. על כן, פרות בקבוצת 5CS ככל הנראה נחשפו לרמות גבוהות יותר של קורטיזול ו-ACTH בדם שלבסוף הוביל להתארכות של המחזור המיני שלהן.

מחקרים קודמים הראו שעקת חום גורמת לשינויים בזרימת הדם לאיברים שונים, לרבות אברים של מערכת המין. הדגימו ירידה של כ-20-30 אחוזים בזרימת הדם לשחלה הן בארנבות והן במטילות שהיו תחת השפעה של עקת חום [30,31]. לכן, סיבה אחרת שיכולה להסביר את ההבדלים באורכי המחזור המיני בין שתי קבוצות הניסוי, היא הירידה בזרימת הדם לשחלה בפרות מקבוצת 5CS שהובילה לירידה בריכוז האסטרדיול $\beta 17$ שמגיע לשחלה בזרם הדם. ואכן, כבר דווח בעבר שריכוז האסטרדיול $\beta 17$ בפלסמה של פרות חלב, נמוך בתקופת הקיץ [32], וישנו מתאם חזק בין ריכוז אסטרדיול $\beta 17$ בדם לבין פעילות ייחומית [33-36]. קיימת האפשרות שבמשטר של חמישה צינונים ביום, זרימת הדם לזקיק פוחתת, ישנה ירידה ברמות האסטרדיול $\beta 17$, דבר שיביא להתארכות של המחזור המיני. כמו כן, יש הטוענים כי ל אסטרדיול $\beta 17$ יש תפקיד מפתח בתהליך הניוון של הגוף הצהוב (לוטיאוליזה) [37]. עובדות אלו תומכות בממצאים שלנו שהראו פרק זמן ארוך יותר של נוכחות רמות גבוהות של פרוגסטרוגן בדמן של פרות מקבוצת 5CS, דבר המצביע על עיכוב בלוטאוליזה.

במחקר שנערך בעבר, נראה כי ירידה בתדירות פעימות השחרור (pulse) של LH בשלבים המוקדמים של המחזור, ומכאן שישנה השפעה על מידת החשיפה של השחלה ל-LH, מה שמוביל להפרעה בהתפתחות הזקיק, הפרעה בתהליך הביוץ ובתהליך הניוון של הגוף הצהוב [26]. בהמשך הוכח כי להפרשת LH בשלבים הראשונים של המחזור, יש תפקיד חשוב בהיווצרותו התקינה של הגוף הצהוב המתפקד [38]. תוך התחשבות בעובדות שצוינו עד כה, ניתן לומר כי ישנה האפשרות שפרות מקבוצת 5CS סבלו מעקת חום משמעותית יותר ביחס לקבוצת 8CS, דבר שהוביל לירידה בזרימת הדם אל הזקיק הדומיננטי, שגרמה לירידה ברמות האסטרדיול $\beta 17$ בדם. זו כאמור השפיעה על שחרור LH מההיפופיזה וכך נגרמה הפרעה בהתפתחות הזקיק, הביוץ והניוון של הגוף הצהוב. כל זה יכול להביא לירידה בביצועי הפוריות.

לעומתן, הוספת צינונים לקבוצת 8CS, הביאה לעלייה בזרימת הדם לזקיק הדומיננטי, ואולי גם גרמה לעלייה ברמות האסטרדיול $\beta 17$ ובכך גם לעלייה בריכוז LH ו-GnRH, שבסופו של דבר היטיבה עם התפתחות הזקיק הדומיננטי, הביוץ וניוון הגוף הצהוב. כל אלו יכולים להביא לשיפור בביצועי הפוריות.

לבסוף, במחקר הנוכחי, זוהתה עלייה בשיעור ההתעברות מהזרעה ראשונה בקרב הפרות מקבוצת 8CS בהשוואה לקבוצת 5CS. אבחנה זו מקבלת תימוכין על ידי מחקר אחר שהראה שמשטר צינון אינטנסיבי בעונה החמה הינו הכרחי לשם הצלחה של טיפול הורמונלי [39]. עם זאת, מאחר וביצענו מחקר פיזיולוגי עם מספר מוגבל של פרות, לא ניתן להסיק בצורה חד משמעית לגבי התרומה של שמונה צינונים ביום בהיבט של שיפור בביצועי הפוריות. עריכת ניסוי נוסף עם מספר פרטים גדול יותר הינה חיונית בכדי לקבוע בצורה ברורה יותר כיצד משטר צינונים אינטנסיבי משפיע על ביצועי הפוריות של פרות חלב בתנאים של עקת חום.

תוצאות המחקר שלנו מציגות מתאם ברור בין מספר הצינונים ביום, אורך המחזור המיני וזרימת הדם לשחלה. על בסיס תוצאות אלה, נראה שמספר קטן יותר של צינונים יכול להיות מקושר עם זרימת דם פחותה לזקיק הדומיננטי שלבסוף תוביל להתארכות של המחזור המיני וכך לירידה בביצועי הפוריות.

בנוסף, בעבודה זו ביססנו וכיילנו את מדידת זרימת הדם לעורק הרחם באמצעות שיטת האולטראסאונד משולבת עם מדד הדופלר בפרות לחלב הן לאורך המחזור המיני והן בתקופה שלאחר ההריון, מיום 8 לאחר המלטה ועד ליום 65 שזהו בערך הזמן של הזרעה ראשונה לאחר ההריון הקודם. זמן זה הינו קריטי, היות וזה הזמן שבו הרחם מתאושש ומחלים מההמלטה שעברה ומכין עצמו להזרעה והריון נוספים. בנוסף, בעבודה זו השווינו את זרימת הדם בעורק הרחם בין החורף והקיץ. מצאנו הבדלים פרמטרים שונים של זרימת הדם, כגון התנגדות כלי הדם, מהירות זרימת הדם ונפח הדם הזורם בעורק. יתכן וההבדלים בפרמטרים אלה בין החורף לבין הקיץ, שבו הפרות סובלות מעקת חום מהווים גורמים נוסף לפוריות הירודה של פרות לחלב בזמן העונה החמה.

מחקרים קודמים הראו שבדיקת אולטראסאונד משולבת במדד הדופלר ניתן ללמוד על הדינאמיקה של התהליכים השונים המתרחשים ברחם. בפרה המחזורית ניתן ללמוד על מוכנות הרחם להריון ויכולת השרשת העובר (16) ולאפשר לזהות את חלון ההזדמנויות להשרשת העובר

ותחילת ההריון (4). בפרה בזמן ההריון ניתן להיעזר בדופלר כדי לעקוב אחרי השרשת עובר, הריון בשלבים השונים והתכנסות הרחם לאחר המלטה והכנתו להריון הבא (2-4). בכלל בעזרת מדד הדופלר ניתן ללמוד על השינויים ההמודינמיים שמתרחשים ברחם (6)(7).

מעטים המחקרים בפרות בפרט ואו בחיות משק בכלל שנעשו עד היום על מנת לאפיין את זרימת הדם לעורק הרחם לאורך מחזור.

בסוסות הראו שיש שינוי מובהק בערכי PI בקורלציה עם ימי המחזור. בימים בראשונים את אמצע המחזור יש עלייה בערכי ה-PI ואילו לאחר מכן הערכים יורדים עד לסוף המחזור (17). בפרות שעברו גירוי שחלתי לביוץ מוגבר נמצאה עלייה בנפח הדם (BFV) וירידה ב-PI בעורק הרחם בימים 10 עד 22 של המחזור הסינכרון (18). שני מחקרים אלה מנוגדים לממצאים שלנו שמראים שאין שינוי ב-PI לאורך המחזור של הפרה. כיוון שמחקר אחד עסק בסוסות והשני לא במחזור טיבעי אלא בגירוי יתר, יתכן והשוני נובע מהבדלים אילו במודלים הנחקרים.

מחקר נוסף שנערך בסוסות מצא שערכי ה-RI מתנהגים כגל לאורך המחזור. ביום הביוץ ערכי ה-RI גבוהים, ויורדים לקראת יום 5. ביום 10 הם שוב עולים ויורדים בימי המחזור המאוחרים 15 ו-20 (16). בפרות מחקר שמדד את ערכי ה-RI לאורך המחזור מצא שערכיו משתנים לאורך המחזור. RI גבוה בתחילת המחזור (ימים 0 ו-1) לאחר מכן, ביום 3 הוא יורד ונשאר קבוע עד לכשלושה ימים לפני המחזור. אז חלה ירידה ברמתו ולקראת ביוץ ולאחארין RI שוב עולה (5). גם כאן, ניתן להסביר את ההבדל ברמות ה-RI עקב השימוש במודלים שונים. המחקר הראשון מדד בסוסות ולא בפרות (16), בעוד המחקר השני מדד את ה-RI בפרות מזן Deutsch Fleckvieh (5) ולא הולשטיין כמו במחקר שלנו.

מעניין לציין שנמצאה קורלציה חיובית בין ה-BFV וקורלציה שלילית בין ה-PI ורמות הפרוגסטרון שנמדדו (18). בנוסף, נמצאה קורלציה בין RI ומהירות זרימת הדם לרמות האסטרוגן (5). כמחקר המשך למחקר שלנו יהיה מעניין לבדוק האם גם בפרת החלב הישראלית קיימת קורלציה בין מדדי זרימת הדם לרחם לרמות ההורמונים בדם. והאם בעזרת מדידת הפרמטרים הנ"ל בעורק הרחם בעזרת שיטת האולטראסאונד משולבת בדופלר ניתן יהיה לחזות בעתיד את רמות ההורמונים ולהסיק על כדאיות ההזרעה, והסיכוי להתפתחות הריון תקין.

המחקרים שנעשו עד כה איפיינו את זרימת הדם לאורך המחזור. אנו, במחקר זה אפיינו את זרימת הדם לאורך המחזור בפרת החלב הישראלית, אך גם בדקנו את השפעת עקת החום על זרימת הדם לעורק הרחם לאורך המחזור.

התוצאות שלנו הראו שאומנם לאורך המחזור עורק הרחם מתרחב הן בקיץ והן בחורף בקורלציה עם היום במחזור, כמו גם הקוטר הסופי של עורק הרחם זהה בין העונות. אולם בקיץ קצב ההתרחבות מהיר יותר בהשוואה לחורף.

שני הפרמטרים העיקריים המהווים מדד לזרימת דם בעורק הינם ה-PI, ה-IR ונפח הדם הזורם בעורק (BFV). IP מחושב כהבדל בין מהירות זרימת הדם הסיסטולית והדיאסטולית מחולק במהירות ממוצעת. PI עולה ככל שכלי הדם עצמו וכלי הדם הסובבים אותו מכווצים יותר או לחילופין ערכי ה-PI נמוכים מצביעים על חוסר עיכוב בזרימת הדם בכלי הדם (19). RI הינו מדד של התנגדות כלי הדם למעבר הדם בו, הוא מושפע ממארג כלי הדם שבאיזור העורק כמו גם

מגמישות כלי הדם (15, 14). במחקר שלנו לא נצפה שינוי ברמות ה-PI ו-RI לאורך המחזור הן בחורף והן בקיץ. לעומתם נפח הדם המגיע לרחם עולה ככל ימי המחזור מתקדמים בשתי העונות. כאשר השווינו מדדים אלה בין בעונה הקרה לעונה חמה מצאנו, שבעוד שבקיץ נפח הדם הזורם בעורק וערכי ה-RI היו גבוהים יותר בהשוואה לחורף לאורך כל ימי המחזור, ערכי ה-PI היו נמוכים יותר בעונה זו בהשוואה לחורף.

ערך נוסף שמדדנו היה מהירות זרימת דם. בשתי העונות מהירות זרימת הדם לאורך התקדמות המחזור גברה, אך בחורף גם מהירות הזרימה וגם קצב העלייה היו נמוכים באופן מובהק בהשוואה לקיץ.

תוצאות אלה מראות שבקיץ, יתכן עקב עקת החום, עורק הרחם מתרחב יותר דבר המביא לזרימה מהירה יותר ולנפח דם רב יותר לעבור בעורק. בנוסף, כיוון שעורק הרחם מעבר קל יותר ובאופן חלק יותר, ולכן ערכי ה-PI נמוכים יותר. יתכן ועל מנת לווסת את הזרימה המהירה של הדם בקיץ, ערכי ההתנגדות של כלי הדם עולים, ולכן ערכי ה-RI גבוהים יותר. יתכן שזרימת הדם המהירה ומעבר נפח דם גדול יותר בזמן קצר יותר כפי שמתקבל בקיץ מפריע לתפקוד תקין של הרחם, להכנה בריאה שלו להשרשת הריון חדש ואולי נאף לתמיכה בעובר ובהריון. תמיכה להשערה זו מתקבלת כאשר משווים את הערכים של זרימת הדם בעורק הרחם ביום 65 לאחר המלטה, כאשר הפרה מוכנה להריון חדש ולערכי המדדים בקיץ ובחורף. מהיארות זרימת הדם, נפח הדם וערכי ה-PI זהים בין החורף לבין יום 65 לאחר המלטה ואילו ערכי הקיץ שונים. -בסיכומנו של דבר, על סמך תוצאות שלנו ניתן לשער כי זרימת הדם המוגברת בעורק הרחם בעונה החמה מהווה נדבך נוסף בהפרעה של עקת חום על אחוזי הפוריות בקיץ.

בניגוד למיעוט המחקרים שנעשו על זרימת הדם בעורק הרחם לאורך מחזור הייחום, קיימים מספר מחקרים שמדדו את זרימת הדם לאחר המלטה בחיות משק (6, 7, 20, 21). מחקרים קודמים שנעשו בפרות תומכים בממצאים שלנו ומראים שבשבועיים עד 12 שבועות לאחר המלטה קוטר הרחם, נפח הדם ומהירות זרימת הדם יורדים בימים ובשבועות הראשונים לאחר ההמלטה (6, 7).

מחקרים נוספים שנעשו בפרות השוו בין זרימת הדם לרחם לאחר המלטה בין פרות בריאות, לפרות הסובלות ממצבים פתולוגיים פוסט-ההריון כגון שלייה עצורה או דלקת רחם (20, 21). מחקרים אלה מצאו שנפח הדם ומהירות זרימת הדם בפרות בריאות היו נמוכים יותר בעורק הרחם של פרות בריאות לאחר ההמלטה בהשוואה לפרות שסבלו מהמצבים המתוארים למעלה.

במחקר זה, ביססנו את המדדים הנידונים לזרימת דם בעורק הרחם לאחר המלטה עד להזרעה ראשונה בפרות בריאות ללא מצבים פתולוגיים. בהמשך יהיה חשוב ומעניין לחקור האם בדומה למחקרים המוזכרים למעלה מצבים פתולוגיים שונים משפיעים על זרימת הדם לרחם, והאם יהיה אפשר בעתיד לזהות ולאבחן מצבים אלה ע"י בדיקת הדופלר.

מסקנות

תוצאות המחקר שלנו מצביעות על כך שמשטר צינונים אינטנסיבי עשוי לתרום ולו רק קצת, בשיכון ההשפעות המזיקות של עקת החום על אורך המחזור המיני התקין של הפרה, ככל הנראה

על ידי שיפור בזרימת הדם לזקיק הדומיננטי. זרימת דם מוגברת לזקיק הדומיננטי מובילה לקיצור אורך המחזור המיני. בקיצור זה, טמון הפוטנציאל להביא לשיפור בביצועי הפוריות של פרת החלב בעונה החמה. מחקר נוסף דרוש בכדי לקבוע את האפקט של משטרי הצינור השונים על תפקודה של השחלה ועל ביצועי הפוריות של פרות

כאשר בוחנים את הרחם, איפיון זרימת הדם לרחם בעזרת הדופלר, מהווה כלי מחקרי חשוב להבנת התהליכים המתרחשים ברחם בזמן מחזור הייחום, ההריון ולאחר ההמלטה והכנת הרחם להריון הבא. המחקר שתואר פה פותח פתח למחקרי המשך בנושא זה ויתכן ואף בעתיד על סמך ממצאי המחקרים שיעשו יוכל מדד הדופלר להשתלב ככלי יישומי במשקי החלב לזיהוי זמני השרשה נכונים ומוכנות הרחם להריון כמו גם לאיבחון של מצבים פתולוגיים שונים

רשימת מקורות:

- [1] Berman A. Increasing heat stress relief produced by coupled coat wetting and forced ventilation. *Journal of dairy science*. 2008;91:4571-8.
- [2] Flamenbaum I, Galon N. Management of heat stress to improve fertility in dairy cows in Israel. *The Journal of reproduction and development*. 2010;56 Suppl:S36-41.
- [3] Galon N, Zeron Y, Ezra E. Factors affecting fertility of dairy cows in Israel. *The Journal of reproduction and development*. 2010;56 Suppl:S8-14.
- [4] Roth Z. Heat stress, the follicle, and its enclosed oocyte: mechanisms and potential strategies to improve fertility in dairy cows. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*. 2008;43 Suppl 2:238-44.
- [5] Wolfenson D, Roth Z, Meidan R. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Animal reproduction science*. 2000;60-61:535-47.
- [6] Herzog K, Brockhan-Ludemann M, Kaske M, Beindorff N, Paul V, Niemann H, et al. Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. *Theriogenology*. 2010;73:691-7.
- [7] Luttgenu J, Bollwein H. Evaluation of bovine luteal blood flow by using color Doppler ultrasonography. *Reproductive biology*. 2014;14:103-9.

- [8] Acosta TJ, Yoshizawa N, Ohtani M, Miyamoto A. Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F(2 alpha) injection in the cow. *Biology of reproduction*. 2002;66:651-8.
- [9] Herzog K, Bollwein H. Application of Doppler ultrasonography in cattle reproduction. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*. 2007;42 Suppl 2:51-8.
- [10] Acosta TJ, Hayashi KG, Ohtani M, Miyamoto A. Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reproduction*. 2003;125:759-67.
- [11] Miyamoto A, Shirasuna K, Hayashi KG, Kamada D, Awashima C, Kaneko E, et al. 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. *The Journal of reproduction and development*. 2006;52:153-60.
- [12] Bollwein H, Meyer HH, Maierl J, Weber F, Baumgartner U, Stolla R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow. *Theriogenology*. 2000;53:1541-52.
- [13] Matsui M, Miyamoto A. Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: practical use for reproductive management in the cow. *Veterinary journal*. 2009;181:232-40.
- [14] Jiang JY, Macchiarelli G, Tsang BK, Sato E. Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles. *Reproduction*. 2003;125:211-23.
- [15] Stouffer RL, Martinez-Chequer JC, Molskness TA, Xu F, Hazzard TM. Regulation and action of angiogenic factors in the primate ovary. *Archives of medical research*. 2001;32:567-75.
- [16] Bohmanova J, Misztal I, Cole JB. Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *Journal of dairy science*. 2007;90:1947-56.
- [17] Acosta TJ, Hayashi KG, Matsui M, Miyamoto A. Changes in follicular vascularity during the first follicular wave in lactating cows. *The Journal of reproduction and development*. 2005;51:273-80.
- [18] Ginther OJ, Silva LA, Araujo RR, Beg MA. Temporal associations among pulses of 13,14-dihydro-15-keto-PGF₂alpha, luteal blood flow, and luteolysis in cattle. *Biology of reproduction*. 2007;76:506-13.
- [19] Miyamoto A, Shirasuna K, Wijayagunawardane MP, Watanabe S, Hayashi M, Yamamoto D, et al. Blood flow: a key regulatory component of corpus luteum function in the cow. *Domestic animal endocrinology*. 2005;29:329-39.

- [20] Wiltbank MC, Dysko RC, Gallagher KP, Keyes PL. Relationship between blood flow and steroidogenesis in the rabbit corpus luteum. *Journal of reproduction and fertility*. 1988;84:513-20.
- [21] Bleach EC, Peiris ID, Grewal TS, Shepherd DA, Savva D. Effect of administration of a novel recombinant bovine interferon on length of oestrous cycle in cattle. *Research in veterinary science*. 1998;64:73-7.
- [22] Wolfenson D, Thatcher WW, Badinga L, Savio JD, Meidan R, Lew BJ, et al. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. *Biology of reproduction*. 1995;52:1106-13.
- [23] Mihm M, Baguisi A, Boland MP, Roche JF. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *Journal of reproduction and fertility*. 1994;102:123-30.
- [24] Sakatani M, Balboula AZ, Yamanaka K, Takahashi M. Effect of summer heat environment on body temperature, estrous cycles and blood antioxidant levels in Japanese Black cow. *Animal science journal = Nihon chikusan Gakkaiho*. 2012;83:394-402.
- [25] Dobson H, Smith RF. What is stress, and how does it affect reproduction? *Animal reproduction science*. 2000;60-61:743-52.
- [26] Wise ME, Armstrong DV, Huber JT, Hunter R, Wiersma F. Hormonal alterations in the lactating dairy cow in response to thermal stress. *Journal of dairy science*. 1988;71:2480-5.
- [27] Bage R, Forsberg M, Gustafsson H, Larsson B, Rodriguez-Martinez H. Effect of ACTH-challenge on progesterone and cortisol levels in ovariectomised repeat breeder heifers. *Animal reproduction science*. 2000;63:65-76.
- [28] Colitti M, Sgorlon S, Stradaioli G, Farinacci M, Gabai G, Stefanon B. Grape polyphenols affect mRNA expression of PGHS-2, TIS11b and FOXO3 in endometrium of heifers under ACTH-induced stress. *Theriogenology*. 2007;68:1022-30.
- [29] Gabai G, Mollo A, Marinelli L, Badan M, Bono G. Endocrine and ovarian responses to prolonged adrenal stimulation at the time of induced corpus luteum regression. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*. 2006;41:485-93.
- [30] Lublin A, Wolfenson D. Lactation and pregnancy effects on blood flow to mammary and reproductive systems in heat-stressed rabbits. *Comparative biochemistry and physiology Part A, Physiology*. 1996;115:277-85.
- [31] Wolfenson D, Frei YF, Snapir N, Berman A. Heat stress effects on capillary blood flow and its redistribution in the laying hen. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*. 1981;390:86-93.

- [32] Wilson SJ, Marion RS, Spain JN, Spiers DE, Keisler DH, Lucy MC. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Lactating cows. *Journal of dairy science*. 1998;81:2124-31.
- [33] Badinga L, Thatcher WW, Diaz T, Drost M, Wolfenson D. Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows. *Theriogenology*. 1993;39:797-810.
- [34] Fabre-Nys C, Gelez H. Sexual behavior in ewes and other domestic ruminants. *Hormones and behavior*. 2007;52:18-25.
- [35] Lyimo ZC, Nielen M, Ouweltjes W, Kruip TA, van Eerdenburg FJ. Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. *Theriogenology*. 2000;53:1783-95.
- [36] Rathbone MJ, Kinder JE, Fike K, Kojima F, Clopton D, Ogle CR, et al. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. *Advanced drug delivery reviews*. 2001;50:277-320.
- [37] Salfen BE, Cresswell JR, Xu ZZ, Bao B, Garverick HA. Effects of the presence of a dominant follicle and exogenous oestradiol on the duration of the luteal phase of the bovine oestrous cycle. *Journal of reproduction and fertility*. 1999;115:15-21.
- [38] K.E. Peters EGB, A.S. Cupp, F.N. Kojima, V. Mariscal, T. Sanchez, M.E. Wehrman, H.E. Grotjan, D.L. Hamernik, R.J. Kittok, J.E. Kinder. Luteinizing hormone has a role in development of fully functional corpora lutea (CL) but is not required to maintain CL function in heifers. *Biol Reprod*. 1994;51:1248-54.
- [39] Friedman E, Voet H, Reznikov D, Wolfenson D, Roth Z. Hormonal treatment before and after artificial insemination differentially improves fertility in subpopulations of dairy cows during the summer and autumn. *Journal of dairy science*. 2014;97:7465-75.