

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 03/03/2022.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ULTRASSONOGRAFIA CONTRASTADA POR  
MICROBOLHAS (CEUS) E DOPPLER UMBILICAL NA  
GESTAÇÃO DE CADELAS BRAQUICEFÁLICAS**

**Priscila Silva  
Médica Veterinária**

**2021**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ULTRASSONOGRAFIA CONTRASTADA POR  
MICROBOLHAS (CEUS) E DOPPLER UMBILICAL NA  
GESTAÇÃO DE CADELAS BRAQUICEFÁLICAS**

**Priscila Silva**

**Orientador: Prof. Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano**

**Co-orientadores: Dr. Ricardo Andrés Ramirez Uscategui**

**Dra. Luciana Cristina Padilha Nakaghi**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Cirurgia Veterinária.

**2021**

## FICHA CATALOGRÁFICA

S586u Silva, Priscila  
Ultrassonografia contrastada por microbolhas (CEUS) e Doppler umbilical na  
gestação de cadelas braquicefálicas / Priscila Silva. -- Jaboticabal, 2021  
62 p. : il., tabs.  
Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal  
Orientador: Marcus Antônio Rossi Feliciano  
Coorientadora: Luciana Cristina Padilha Nakaghi  
1. Cães. 2. Ultrassonografia veterinária. 3. Ultrassonografia Doppler. 4.  
Meios de contraste (diagnóstico por imagem). 5. Alterações gestacionais. I.  
Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca  
da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados  
fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

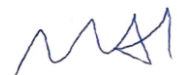
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ULTRASSONOGRAFIA CONTRASTADA POR MICROBOLHAS (CEUS) E  
DOPPLER UMBILICAL NA GESTAÇÃO DE CADELAS BRAQUICEFÁLICAS

**AUTORA: PRISCILA SILVA**  
**ORIENTADOR: MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO**  
**COORIENTADOR: RICARDO ANDRES RAMIREZ USCATEGUI**  
**COORIENTADORA: LUCIANA CRISTINA PADILHA NAKAGHI**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIRURGIA VETERINÁRIA,  
pela Comissão Examinadora:

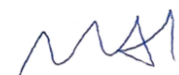
Prof. Dr. MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO (Participação Virtual)  
Setor de Diagnóstico por Imagem-UFSM / Santa Maria/RS



Pós-doutorando VICTOR JOSÉ CORREIA SANTOS (Participação Virtual)  
Depto de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP – Jaboticabal



Pós-doutoranda MARJURY CRISTINA MARONEZI (Participação Virtual)  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal  
FCAV / UNESP Jaboticabal



Prof. Dr. LEANDRO NASSAR COUTINHO (Participação Virtual)  
Departamento de Diagnóstico por Imagem - UFRA / Belem,PA



Prof. Dr. FELIPE FARIAS PEREIRA DA CÂMARA BARROS (Participação Virtual)  
Departamento de Medicina Veterinária e Cirurgia Veterinária-UFRRJ / Seropédica/RJ



Jaboticabal, 03 de março de 2021.

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**Priscila Silva** – Filha de Francisco José da Silva e Sirlei Martiniano da Silva, nascida em 05 de agosto de 1989, em São Paulo/SP, é Médica Veterinária, formada na Universidade Brasil (2013), Câmpus Fernandópolis, São Paulo. Realizou Residência Médica na área de Obstetrícia Veterinária e Reprodução Animal no período de 2014-2016 no Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal, São Paulo. Iniciou o curso de Pós-graduação Stricto Senso, sendo Mestre em Cirurgia Veterinária, pela mesma instituição, com bolsa da Capes (2016). Atualmente é Doutoranda em Cirurgia Veterinária também pela mesma instituição, bolsita CNPq, com linha de pesquisa em avaliação ultrassonográfica em cadelas gestantes, sob orientação do Prof. Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano, e coorientação dos professores Dr. Ricardo Andrés Ramirez Uscategui e Dra. Luciana Cristina Padilha Nakaghi.

## EPÍGRAFE

*Não fui eu que lhe ordenei? Seja forte e corajoso!  
Não se apavore, nem se desanime, pois, o Senhor, o seu Deus,  
estará com você por onde você andar".*

*Josué 1:9*

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho a Deus e aos meus pais,  
Francisco José da Silva e  
Sirlei Martiniano da Silva.*



## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus pelo seu cuidado diário, por ter me dado sabedoria e força para não desistir dos meus sonhos. Deus tinha um plano para a minha vida quando me guiou até Jaboticabal, e eu agradeço de coração tudo que aconteceu na minha vida desde que cheguei aqui.

Agradeço aos meus queridos pais, Francisco e Sirlei por serem meus exemplos de vida, por tudo que conquistaram graças a insistência em serem melhores para educar e criar suas 3 filhas. Por não medirem esforços para me ver feliz, por todas as vezes que abdicaram das suas próprias vontades para fazer a minha e de minhas irmãs. Sem vocês, não sou! Saibam que eu sempre farei o possível e impossível para que vocês se orgulhem de mim. Eu poderia escrever tanto sobre vocês, e ainda assim não conseguiria expressar o quanto me orgulho em ser filha de vocês. Obrigada por serem pais amorosos, cuidadosos, dedicados, e presentes, muito presentes em todos os momentos da minha vida. Ter vocês por perto me passa segurança, é como se a presença de vcs anulasse qualquer coisa negativa que pudesse acontecer comigo. Obrigada por tudo, eu amo vocês! Esse título é NOSSO!

Agradeço as minhas irmãs, Estefane e Natália, por serem o meu maior laço, por ser nós 3, por nos amar do nosso jeitinho único, e sempre entenderem a minha distância física em alguns momentos tão importantes na vida delas, por me ajudem dando apoio, ouvindo quando as coisas não iam tão bem e apoiando meus sonhos e minhas escolhas. Sem o amor de vocês com certeza teria sido muito mais difícil estar longe de casa, mas vocês se fizeram presentes em cada mensagem e ligação por facetime. Eu não poderia ter uma família melhor!

Agradeço aos meus avós, Cícera e Manoel, que eu tanto amo! Por estarem comigo em todos os momentos, por serem o melhor colinho que poderia existir!

Aos meus tios e tias, primos e primas que oraram por mim, e torceram sempre para que eu conseguisse chegar até aqui.

Em especial ao meu primo/irmão Ewerton, por se fazer presente em todos os momentos da minha vida, amigo fiél e conselheiro, muito obrigada.

Ao meu amigo e companheiro Igor Gatto, que teve toda paciência do mundo nessa longa jornada, que dividiu comigo todos os períodos desde a

graduação, residência e pós graduação. Obrigada por caminhar comigo e me apoiar em tantos momentos importantes. Sou sua fã, e sem você teria sido muito mais difícil.

Aos meus pais de coração, Silvana e Moacir, que fazem a maior questão do mundo de nos acompanhar, apoiar e se sentirem felizes com as nossas conquistas como se fosse deles, muito obrigada.

Gostaria de agradecer imensamente ao Mestre e Prof. Wilter, que me abriu as portas na FCAV/Unesp Jaboticabal. Obrigada por tudo, nunca terei palavras para expressar a gratidão e o carinho que eu tenho pelo senhor. Acolhedor e capaz de agrega as pessoas. Nosso pai acadêmico.

Ao meu Orientador Prof. Marcus Feliciano, por ter me recebido para o Mestrado e Doutorado, por todos os ensinamentos, e principalmente a paciência. Obrigada de coração pela confiança em me entregar trabalhos tão importantes, apoio e incentivo. Que Deus continue realizando todos os seus sonhos.

Aos meus co-orientadores, Luciana Padilha que foi essencial na escrita desse trabalho, que me abraçou e acolheu com um carinho de mãe. E ao Ricardo Uscategui, que sempre me ajudou desde a residência até aqui, aprendi muito com você, te admiro e agradeço por ter contribuído para o meu crescimento profissional. Obrigada de coração aos dois!

Gostaria de agradecer com muito carinho a toda família Obstetrícia, pós graduandos e salinha da Reprodução, é difícil citar todos os nomes, pois quando cheguei em 2014 fui muito bem acolhida, e não poderia de deixar de agradecer a cada um que contribuiu de alguma maneira para o meu crescimento pessoal e profissional, foi um grande prazer conhecer, conviver, e aprender com vocês. Essa família que o Prof. Wilter construiu de orientados e agregados com certeza ficará para sempre em meu coração. Nesse sentido, gostaria de agradecer a minha amiga Vivian Tavares, que foi essencial para que tudo acontecesse, obrigada pela amizade e cuidado!! A Marina Brito e Ana Paula Simões que foram as melhores professoras e incentivadoras para que eu fizesse a residência, e a partir dali as oportunidades foram surgindo. Agradeço a vocês por me ensinarem taaaanto. Não tem como chegar até aqui e esquecer do início da caminhada,

desde a primeira oportunidade que foi o estágio. Cresci e me transformei em uma pessoa e profissional melhor, graças a todos vocês que estiveram comigo.

Gostaria de agradecer as minhas grandes amigas Marjury Maronezi, Beatriz Gasser e Letícia Pavan, que me ajudaram em cada processo para que esse trabalho fosse executado, além da amizade fora do ambiente de trabalho. A caminhada não teria sido a mesma sem vocês, formamos o melhor quarteto e eu sempre levarei vocês no meu coração. Amo vocês e obrigada por tudo!

A Priscila Del Aguila, Luiz Paulo Aires, Marcos Vinicius e Aninha que se fizeram tão presentes no final dessa etapa. Obrigada pela amizade, momentos de descontração e carinho, o que tornou essa fase de final de doutorado e pandemia muito mais leve.

Da mesma maneira, todas as residentes que passaram pelo setor de Obstetrícia após a minha saída para a pós graduação. Desejo que vocês sejam muito felizes e realizadas.

Aos funcionários do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel, tenho muito carinho e admiração por cada um que contribuiu e participou da minha jornada ao longo desses 7 anos. Gratidão e muitas bençãos para vocês! Em especial ao Arnildo, Edson, Lidiane, Maria Luíza e Prof Mirela. Cada um sabe da importância, carinho e admiração que tenho por eles.

Aos funcionários da Pós Graduação, que sempre estiveram disponíveis para ajudar e tirar dúvidas. Que Deus abençoe cada um de vocês.

Também gostaria de agradecer a todos os amigos que fiz ao longo dessa caminhada, os que estão comigo desde a residência, até a pós graduação. São muitos e seria injusto colocar nomes e esquecer alguém. Graças a Deus tive vocês aqui para me apoiar, escutar nos momentos de tristeza, e também por me fazerem sorrir e tornar a caminhada mais leve. GRATIDÃO, foi maravilhoso ter formado esses laços aqui, quero levar vocês comigo sempre!

Gostaria de fazer um agradecimento especial aos cães que contribuíram com seus animais para o desenvolvimento deste trabalho, Canil Puker's China (Fabiano) e Canil Meu Bulldog Inglês (Sérgio), aos criadores Flávia e Marcus, Joyce e Samuel e ao Ricardo, meu muito obrigada. E principalmente ao Canil Marvin Stars (Marcos e Marcelo), que além do trabalho se tornaram grandes amigos. Gratidão por tudo! Aprendi muito com cada animalzinho que estive comigo durante esses anos, e sou grata pela vida de cada serzinho que passou

pelas minhas mãos. Cuidei, tratei e me apeguei com eles como se fossem meus. Sempre vou me lembrar dos olhinhos brilhando de cada um deles.

Aos professores Eliandra Buttler, Leandro Nassar Coutinho, Felipe da Câmara Barros e Dra. Marjury Maronezi pela participação na banca examinadora, disponibilidade e considerações nesse trabalho.

Agradeço a CAPES, pela concessão da bolsa de Doutorado. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa e auxílio pesquisa, Processo 160348/2018-8 .

A Unesp Jaboticabal, que me acolheu, as lágrimas caem dos olhos ao lembrar de cada momento vivido aqui, momentos de crescimento, desafios e descobertas. Obrigada por tudo que você me trouxe. Da mesma maneira a cidade de Jaboticabal, que foi a minha casa, e todas as pessoas que tive o privilégio de conhecer fora da instituição. Sentirei muitas saudades, e lembrarei com muito carinho desse lugar!!!

Aos meus amigos que entenderam a distância física, mas que mesmo assim se fizeram muito presentes em todas as etapas, em especial, Ivonete, Pâmela, Mirela e Mariana Andrade.

Também gostaria de agradecer aos meus companheirinhos Taty, Nick e Tetéia, que estiveram fielmente do meu lado, e trouxeram a paz e alegria que eu precisava. *In memoriam*, Estrelinha , Boris e Fofinho, que sempre estarão vivos no meu coração.

É com muita alegria e GRATIDÃO que finalizo esse ciclo na minha vida. Só tenho a agradecer. E peço a Deus que agora eu possa colher os frutos, e cada dia me sentir mais feliz e realizada na profissão que enche o meu coração de alegria.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....</b>	ii
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	v
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>	<b>1</b>
1.INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. Desenvolvimento placentário.....	2
2.2. Circulação fetal.....	3
2.3. Ultrassonografia gestacional modo B e doppler.....	5
2.4. Ultrassonografia contrastada por microbolhas (CEUS).....	8
2.5.Anormalidades na gestação.....	9
REFERÊNCIAS.....	12
<b>CAPÍTULO 2 – Ultrassonografia Contrastada na avaliação da perfusão placentária de cadelas braquicefálicas.....</b>	<b>20</b>
RESUMO.....	21
INTRODUÇÃO.....	22
MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
<i>Exames ultrassonográficos modo B e doppler.....</i>	<i>26</i>
<i>Contraste microbolhas (CEUS).....</i>	<i>28</i>
Análise estatística.....	29
Resultados.....	30
Gestação Fisiológica.....	31
Anormalidades Gestacionais.....	32
Discussão.....	33
Referências.....	42
<b>CAPÍTULO 3 – Relato de caso: detecção ultrassonográfica de nefrite intersticial em feto canino.....</b>	<b>55</b>
ABSTRACT.....	55
INTRODUÇÃO.....	56
Caso.....	57
Discussão.....	59
Referências.....	61

# CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

## CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Ultrassonografia contrastada por microbolhas na avaliação do sistema reprodutor de cadelas**", protocolo nº 008978/18, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 05 de julho de 2018.

Vigência do Projeto	01/08/2018 a 01/09/2022
Espécie / Linhagem	Canina / Animais braquicefálicos
Nº de animais	15
Peso / Idade	5 – 15 Kg / 5 a 12 anos
Sexo	Fêmeas
Origem	Rotina dos Serviços da Obstetrícia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e veterinárias, UNESP/Jaboticabal e de canis criadores da Região de Jaboticabal

Jaboticabal, 05 de julho de 2018.

*Fabiana Pilarski*  
**Profª Drª Fabiana Pilarski**  
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias  
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal/ SP - Brasil  
tel 16 3209 7100 www.fcav.unesp.br

## ULTRASSONOGRRAFIA CONTRASTADA POR MICROBOLHAS (CEUS) E DOPPLER UMBILICAL NA GESTAÇÃO DE CADELAS BRAQUICEFÁLICAS

**RESUMO** – Os objetivos dos estudos foram realizar a avaliação da hemodinâmica gestacional fisiológica, envolvendo a dinâmica vascular da artéria umbilical e a perfusão de placentas normais e funcionais e então estabelecer parâmetros qualitativos e quantitativos de referência para cadelas braquicefálicas saudáveis e avaliar a vascularização e perfusão placentária em cadelas com anormalidades fetais próximas ao parto. Foram utilizados 44 fetos, provenientes de 22 cadelas braquicefálicas, e 9 fetos com anormalidades. Os exames ultrassonográficos foram realizados nos três terços da gestação, aos 25, 45 e 58 dias, neste último momento, dos fetos com anormalidade gestacionais. Utilizou-se aparelho ACUSON S2000/SIMENS e transdutor multifrequencial matricial e linear. Foram avaliados dois fetos de cada fêmea, preferencialmente os localizados próximos a região de ovário. O modo doppler espectral foi utilizado para mensuração eletrônica das variáveis dopplerfluxométricas da artéria umbilical: velocidade sistólica (VS), velocidade diastólica (VD), tempo médio de velocidade mínima (TaMin), tempo médio de velocidade máxima (TaMax), índice de pulsatilidade (IP) e índice de resistência (IR). Após, foi realizada a CEUS utilizando o software de imagem harmônica (CADENCE) na avaliação qualitativa do contraste ultrassonográfico, identificando: uniformidade do preenchimento nas regiões placentárias (homogêneo ou heterogêneo), áreas de hipoperfusão, e se ao longo do período gestacional o padrão de realce sofreria alterações em relação a entrada e saída do contraste; e na quantitativa dos parâmetros de perfusão placentários: pico de intensidade do contraste (Fpeak em % de pixels), tempo para o pico (Ftp em s), tempo médio de transmissão (Fmtr em s), área sob a curva (Fauc) e inclinação da curva de entrada em pixels (Fpixels). As variáveis coletadas foram comparadas entre os fetos avaliados (normais e anormais) e entre os momentos pelo teste T-Student e ANOVA e correlacionadas pelo teste de Spearman. Nos fetos saudáveis as variáveis VS, VD, TaMax e TaMin aumentaram significativamente do M2 para o M3 ( $P < 0,05$ ), enquanto o IP ( $P < 0,043$ ) e o IR ( $P < 0,001$ ) diminuíram. Os parâmetros avaliados no CEUS permaneceram constantes durante todos os terços da gestação ( $P < 0,05$ ). Qualitativamente, em todos os momentos avaliados, a distribuição do contraste foi homogênea no tecido placentário. Foi possível acompanhar as adaptações vasculares materno-fetais conforme a progressão da gestação em cadelas, de forma a atender às crescentes demandas metabólicas do feto. Já nos fetos que apresentaram hidropsias os valores de Doppler foram semelhantes aos obtidos nos saudáveis ( $P < 0,05$ ), porém na avaliação com CEUS foi possível verificar uma distribuição heterogênea, com menor intensidade de preenchimento do tecido placentário e um atraso nos tempos de perfusão ( $P < 0,05$ ), com acurácia diagnóstica próxima de 75%. A associação das técnicas dopplerfluxométricas e CEUS permitiu estabelecer parâmetros qualitativos e quantitativos da hemodinâmica gestacional fisiológica, em todos os terços da gestação, sendo possível correlacionar com desenvolvimento e manutenção de todo processo gestacional, sem evidência de alterações significativas na fisiologia do binômio materno-fetal; assim a CEUS demonstrou ser aplicável na detecção de falhas no

preenchimento vascular placentário (disfunção tecidual) em fetos com anasarca e hidrocefalia. Adicionalmente, foram descritos os achados ultrassonográficos de alterações encontrados durante o exame pré natal, de alterações nas estruturas renais de um feto pela da ultrassonografia de alta definição, com descrito no relato de caso presente nesta tese.

**Palavras-chave:** cães, ultrassonografia veterinária, ultrassonografia Doppler, meios de contraste (diagnóstico por imagem), alterações gestacionais.



## **CONTRAST-ENHANCED ULTRASOUND (CEUS) AND UMBILICAL DOPPLER IN THE PREGNANCY OF BRACHYCEPHALIC BITCHES**

**ABSTRACT** - The objectives of the studies were to evaluate the physiological gestational hemodynamics, involving the vascular dynamics of the umbilical artery and the perfusion of normal and functional placentas, and then to establish qualitative and quantitative reference parameters for healthy brachycephalic bitches and to evaluate the vascularization and placental perfusion in bitches with fetal abnormalities close to delivery. 44 fetuses were used, from 22 brachycephalic bitches, and 9 fetuses with abnormalities. Ultrasound examinations were performed in the three thirds of pregnancy, at 25, 45 and 58 days, at this last moment, of fetuses with gestational abnormalities. An ACUSON S2000 / SIMENS device and a multi-frequency matrix and linear transducer were used. Two fetuses from each female were evaluated, preferably those located near the ovary region. The spectral doppler mode was used to electronically measure the dopplerfluxometric variables of the umbilical artery: systolic velocity (VS), diastolic velocity (RV), mean minimum velocity time (TaMin), mean maximum velocity time (TaMax), pulsatility index (IP) and resistance index (IR). Afterwards, CEUS was performed using the harmonic imaging software (CADENCE) in the qualitative evaluation of the ultrasound contrast, identifying: uniformity of filling in the placental regions (homogeneous or heterogeneous), areas of hypoperfusion, and whether, throughout the gestational period, the pattern of enhancement would change in relation to the entry and exit of the contrast; and in the quantity of placental perfusion parameters: peak contrast intensity (Fpeak in% of pixels), time to peak (Ftp in s), average transmission time (Fmтт in s), area under the curve (Fauc) and slope of the input curve in pixels (Fpixels). The variables collected were compared between the fetuses evaluated (normal and abnormal) and between the moments by the T-Student and ANOVA tests and correlated by the Spearman test. In healthy fetuses, the variables VS, VD, TaMax and TaMin increased significantly from M2 to M3 ( $P < 0.05$ ), while PI ( $P < 0.043$ ) and IR ( $P < 0.001$ ) decreased. The parameters evaluated in CEUS remained constant during all thirds of pregnancy ( $P < 0.05$ ). Qualitatively, in all evaluated moments, the distribution of contrast was homogeneous in the placental tissue. It was possible to monitor the maternal-fetal vascular adaptations according to the progression of gestation in bitches, in order to meet the increasing metabolic demands of the fetus, which allow it to develop properly. In the case of fetuses that presented hydrops, the Doppler values were similar to those obtained in the healthy ones ( $P < 0.05$ ), however, in the evaluation with CEUS it was possible to verify a heterogeneous distribution, with less intensity of filling of the placental tissue and a delay in the times of perfusion ( $P < 0.05$ ), with diagnostic accuracy close to 75%. The association of flow-through doppler techniques and CEUS allowed to establish qualitative and quantitative parameters of physiological gestational hemodynamics, in all thirds of pregnancy, of healthy brachycephalic bitches, being possible to correlate with the development and maintenance of the whole gestational process of healthy bitches, without evidence of significant changes in the physiology of the maternal-fetal binomial; thus, CEUS proved to be applicable in the detection of flaws in the

placental vascular filling (tissue dysfunction) in fetuses with anasarca and hydrocephalus. In addition, the sonographic findings of alterations found during the prenatal examination, of alterations in the renal structures of a fetus by that of high definition ultrasonography, have been described, as described in the case report in this thesis.

**Keywords:** dogs, veterinary ultrasound, Doppler ultrasound, contrast media (diagnostic imaging), gestational changes.

## **CAPÍTULO 1 – Considerações gerais**

### **1. Introdução**

O exame ultrassonográfico tem grande utilidade como auxílio no diagnóstico e acompanhamento gestacional na cadela (Davidson e Baker, 2009). Foi introduzido para esse fim em 1978 e, desde então vem se expandindo devido à sua eficácia e segurança (Matton e Nyland, 2015). A ultrassonografia é um método preciso e seguro para a fêmea e os fetos, sendo utilizado para confirmação da gestação, estimar a idade gestacional, avaliar a viabilidade fetal, além de diagnosticar condições anormais que possam estar relacionadas a gestação, como subdesenvolvimento fetal, morte fetal e abortamento (Feliciano et al., 2007).

A placenta é um órgão vascular que se forma no decorrer da gestação e por meio dela ocorre a comunicação entre o organismo materno e fetal através do cordão umbilical (Prestes e Alvarenga, 2006). A avaliação desse tecido também é importante considerando que fatores como subdesenvolvimento embrionário podem estar associado a alterações relacionadas a placenta (Johnston et al., 2001).

Com o avanço da tecnologia, a melhora dos transdutores e a melhor resolução de imagem, há maior detalhamento nas avaliações, sendo possível acompanhar com precisão a organogênese, sinais ultrassonográficos de reabsorção, doenças congênitas e hereditárias no pré-natal (Blanco et al., 2011). Com essa evolução tecnológica é possível também estudar a circulação útero-placentária e feto-placentária por meio da ultrassonografia Doppler (Giannico et al., 2015), inclusive auxiliando no diagnóstico de gestações anormais e/ou abortos em cães (Nautrup, 1995; Giannico et al., 2015). O Doppler é um método que, associado à ultrassonografia convencional, fornece informações em tempo real sobre a arquitetura vascular e os aspectos hemodinâmicos dos vasos em diversos órgãos (Carvalho, 2008).

Somando às demais técnicas, a ultrassonografia por contraste microbolhas (CEUS) é um método diagnóstico recente que possibilita a avaliação de alterações hemodinâmicas por meio do estudo das características da perfusão vascular. Este

método avalia a capilarização tecidual através da administração intravenosa das microbolhas, que por apresentarem tamanho semelhante ao das hemácias se difundem tanto na macro como na microcirculação, além de promover aumento do sinal Doppler quando associados, melhorando a qualidade do exame (Feliciano et al., 2019).

Considerando a associação das técnicas ultrassonográficas, os objetivos deste estudo foram determinar a dinâmica vascular da artéria umbilical dos fetos por meio da técnica Doppler e as características qualiquantitativas da perfusão placentária por meio do CEUS e verificar a correlação com desenvolvimento e manutenção do processo gestacional em fetos com e sem anormalidades durante a gestação de cadelas braquicefálicas saudáveis.

### 3. REFERÊNCIAS

Ambrósio CE, Martins DS, Miglino MA (2009) Biologia do desenvolvimento em cães: comportamento do embrião/feto em relação a placenta. **Revista Brasileira de Reprodução Animal** 6:133.

Aralla M, Groppetti D, Caldarini L, Cremonesi F, Arrighi S (2013) Morphological evaluation of the placenta and fetal membranes during canine pregnancy from early implantation to term. **Research in Veterinary Science** 5:15-22.

Baschat AA, Gembruch U, Reiss I, Gortner LCP, Weiner P, Harman CR (2000) Relationship between arterial and venous Doppler and perinatal outcome in fetal growth restriction. **Ultrasound Obstet Gynecology** 16:407-413.

Blanco, P.G. et al. (2009) An experimental model to study resistance index and systolic/diastolic ratio of uterine arteries in adverse canine pregnancy outcome. **Reproduction in Domestic Animals** 44:164-166.

Blanco PG, Rodríguez R, Rube A, Arias DO, Tórtora M, Díaz JD, Gobello C (2011) Doppler ultrasonographic assessment of maternal and fetal blood flow in abnormal canine pregnancy. **Animal Reproduction Science** 126: 130–135.

Blanco PG, Totóra M, Rdríguez R, Arias DO, Gobello C (2011) Ultrasonographic assessment of maternal cardiac function and peripheral circulation during normal gestation in dogs. **Veterinary Journal** 190:154-159.

Bollwein H, Baumgartner U, Stolla R (2002) Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during pregnancy. **Theriogenology** 57:2053–2061.

Bracher V, Mathias S, Allen WR (1996) Influence of chronic degenerative endometritis (endometrosis) on placental development in the mare. **Equine Veterinay Journal** 28:180–188.

Brito AB, Miranda SA, Ruas MR, Santos RR, Domingues SFS (2010) Assessment of feline fetal viability by conceptus echobiometry and triplex Doppler ultrasonography of uterine and umbilical arteries. **Animal Reproductin Science** 122:276-281.

Brito M, Feliciano M, Coutinho LN, Uscategui R R, Simões A, Maronezi, MC, Russiano WR (2015) Doppler and contrast- enhanced ultrasonography of testicles in adult domestic felines. **Reproduction in Domestic Animals**, 50:730–734.

Buchanan JW (2001) Pathogenesis of single right coronary artery and pulmonic stenosis in English Bulldogs. **Journal. Veterinary Internal Medicine**, 15:101-104.

Camargo NI, Berlim AT, Magalhães FJR, Manso Filho HC, Wishral A (2016) Biometria fetal em cadelas da raça Shih-Tzu através de ultrassonografia. **Veterinária e Zootecnia** 23(4):604-612.

Carvalho CF, Chammas, MC, Cerri, GG (2008) Morfologia duplex Doppler dos principais vasos sanguíneos abdominais em pequenos Animais. **Ciência Rural, Santa Maria** 38:880-888.

Casal, ML (2016). Congenital and genetic diseases of puppies before the weaning: can we prevent them? In: **VIII International Symposium on Canine and Feline Reproduction, Paris.**

Cerro GG et al. (1998) Avaliação dúplex do fígado, sistema portal e vasos viscerais. In:\_\_\_\_\_ Doppler. São Paulo: Sarvier 6:120-121.

Cremonesia F, Corradettib B, Consigliao Lange A (2011) Fetal adnexa derived stem cells from domestic animal: progress and perspectives **Theriogenology** 75:1400–1415.

Crissiuma AL, Labarthe NV, Soares AMB, Juppa Jr CJ, Mannarino R, Gershony LC (2005) Aspectos cardiorrespiratórios e ácidos-básicos do período de transição fetal-neonatal em cães. **Revista Clinica Veterinária** 57:36-40.

Cunningham JG (2004) Transporte de oxigênio fetal e neonatal. In. Cunningham JG. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 492-496.

Cunto M, Zambelli, D, Castagnetti C, Linta, N, & Bini, C. (2014). Diagnosis and treatment of foetal anasarca in two English bulldog puppies. **Pakistan Veterinary Journal** 35:251– 253.

Davidson AP, Baker TW (2009) Reproductive Ultrasound of the Bitch and Queen. **Topics in Companion Animal Medicine** 24:55-63.

Di Salvo P, Bocci F, Zelli R, Polisca A (2006) Doppler evaluation of maternal and fetal vessels during normal gestation in the bitch. **Veterinary Science** 81:382-388.

Duong A, Steinmaus C, Mc-hale CM, Vaughan CP, Zhang L (2011). Reproductive and developmental toxicity of formaldehyde: a systematic review. **Mutatation Reserch** 728, 118-138.

Feliciano MAR, Muzzi LAL, Leite CAL, Junqueira MA (2007) Two-demensional conventional, high resolution two-dimensional and three-dimensional ultrasonography in the evaluation of pregnant bitch. **Arquivo Brasileiro de Medicina veterinária e zootecnia** 59:1333-1337.

Feliciano MAR, Assis AR, Vicente WRR (2019) **Ultrassonografia em cães e gatos**. Editora MedVet 45.

FitzGerald DE, Drumm JE (1977) Non-invasive measurement of human fetal circulation using ultrasound: a new method. **British Medical Journal** 2:1450–1451.

Freccero F, Toaldo MB, Castagnetti C, Cipone M, Diana A (2017) Contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) of the uterus during normal equine pregnancy: preliminary report in two mares. **Journal of Equine Veterinary Science** 54:42-49.

Freitas LA, Mota GL, Silva HVR, Carvalho CF, Silva LDM (2016) Can maternal-fetal hemodynamics influence prenatal development in dogs? **Animal Reproduction Science** 172:83- 93.

Garcia PHS, Crivellenti LZ, Feliciano MAR (2015) Rins. In: Feliciano MAR, Canola JC, Vicente WRR (Eds) **Diagnóstico por imagem em cães e gatos** São Paulo:MedVet, p. 411-439.

Gasser B, Uscategui RAR, Maronezi, MC, Pavan L., Simões APR, Martinato F, Silva P, Crivellenti LZ, & Feliciano MAR (2020) Clinical and ultrasound variables for early diagnosis of septic acute kidney injury in bitches with pyometra. **Scientific Reports** 10: 8994.

Giannico MT, Gil MEU, Garcia DA A, Froes TR (2015) The use of Doppler evaluation of the canine umbilical artery in prediction of delivery time and fetal distress. **Animal Reproduction. Science** 154:105 – 112.

Gil EM, Garcia DA, Giannico AT, Froes TR (2014) Canine fetal heart rate: do accelerations or decelerations predict the parturition day in bitches? **Theriogenology** 15:933-941.

Gilbert-Barness E (2010) Teratogenic causes of malformations. **Annals of Clinical & Laboratory Science** 2: 99– 114.

Gill RW, Kossoff G (1979) Pulsed Doppler combined with B-mode imaging for blood flow measurement. **Contrib Gynecology Obstetricy** 6:139–141.

Haers H & Saunders JH (2009) Review of clinical characteristics and applications of contrast-enhanced ultrasonography in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association** 234:460-470.

Hecht S (2011) Trato reprodutor feminino. In: PENNINCK, D; D'ANJOU, M. **Ultrassonografia de Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.395-414.

Hopper BJ, Richardson JL, & Lester NV (2004). Spontaneous antenatal resolution of canine hydrops fetalis diagnosed by ultrasound. **Journal of Small Animal Practice** 45: 2–8.

Hua X, Zhu L-P, Li R, Zhong H, Xue YF, et al. (2009) Effects of diagnostic contrast-enhanced ultrasound on permeability of placental barrier: A primary study. **Placenta** 30: 780–784.

Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PNS (2001) Canine and feline **Theriogenology**. Philadelphia, p. 592.

Kalantarinia K, Okusa M (2007) Ultrasound Contrast Agents in the Study of Kidney Function in Health and Disease. *Drug Discovery Today*. **Disease Mechanism** 4:153-158.

Liu D, Gu X, Liu F et al. (2019) Application of contrast-enhanced ultrasound for scar pregnancy cases misdiagnosed as other diseases. **Clinica Chimica Acta** 496:134–139.

Lourenço MLG (2015) **Cuidados com neonatos e filhotes**. In: Jericó MM, Kogika MM, De Andrade Neto JP. Tratado de medicina interna de cães e gatos. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan.

Madazli R, Uludag, S, Ocak V (2001) Doppler assessment of umbilical artery, thoracic aorta and middle cerebral artery in the management of pregnancies with growth restriction. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, 80:702-707.

Mattoon JS, Nyland TG (2015) Ovaries and uterus. In: Mattoon, J.S., Nyland, T.G. (Eds.), **Small Animal Diagnostic Ultrasound**. 3rd ed. Elsevier, Canada, pp. 634-654, 2015.

Mattos SS (1997) Fisiologia da circulação fetal e diagnóstico das alterações funcionais do coração do feto. **Arquivo Brasileiro Cardiologia** 69:205-207.

Michel G, Schwarze E (1970) Embriología. In: SCHWARZE, E. **Compendio de anatomía veterinária**. Acribia: Zaragoza Cap.6. p.136-143.

Miglino MA, Ambrósio CE, Martins D S, Wenceslau CV, Pfarrer C, Leiser R (2006) The carnivore pregnancy: The development of the embryo and fetal membranes. **Theriogenology** 66:1699-1702.

Miranda SA, Domingues SFS (2010) Conceptus ecobiometry and triplex Doppler ultrasonography of uterine and umbilical arteries for assessment of fetal viability in dog. **Theriogenology** 74:608-617.



Nautrup CP (1998) Doppler ultrasonography of canine maternal and fetal arteries during normal gestation. **Journal of Reproduction Fertility** 112:301-314.

Nautrup PC (1996) Hannover. **Duplexsonographie**. In: Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze, p 314-322.

Nepomuceno AC, Feliciano MAR, Crivalero RM, Oliveira MEF, Coutinho LN, Vicente WRR (2013) Fetal echoencephalography and Doppler ultrasonography of the middle cerebral artery in canine fetuses. **Journal of Small Animal Practice**, 54:149-152.

Nicolaidis, RH, Rizzo G, Hecher K (2000) Methodology of Doppler assessment of the placental and fetal circulation. In placental and fetal Doppler. **Partenon Publishing: Carnforth** 41 -42.

Nogueira AC, Morcerf F et al (2002) Ultrassonografia com agentes de contrastes por microbolhas na avaliação da perfusão renal em indivíduos normais. **Revista Brasileira de Ecocardiografia** 15:74-78.

Nyberg DA, Abuhamad A, Ville Y (2004) Ultrasound assessment of abnormal fetal growth. **Seminars in Perinatology** 28:3–22

Nyland TG, Mattoon JS (2002) **Ovaries and uterus**. In: Small Animal Diagnostic Ultrasound. 2ed. Philadelphia:WB Saunders, p.231-249.

Nyman HT, Kristensen AT, Kjølgaard-Hansen M. & Mcevoy FJ (2005) Contrast-enhanced ultrasonography in normal canine. **Veterinary Radiology and Ultrasound** 46:243-250.

O'brien R, Iani M, Matheson, J, Delaney, F. & Young, K (2004) Contrast harmonic ultrasound of spontaneous liver nodules in 32 dogs. **Veterinary Radiology and Ultrasound** 45:547-533.

Ordén MR, Gudmundsson S, Helin HL, Kirkinen P (1999) Intravascular contrast agente in the ultrasonography of ectopic pregnancy. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology** 14:348–352.

Orden MR, Leinonen M, Kirknen P (2000) Contrast-enhanced ultrasonography of uteroplacental circulation does not evoke harmful CTG changes or perinatal events. **Fetal Diagnosis Therapy** 15:139-145.

Orlandi R, Vallesi E, Boiti C, Polisca A, Troisi A, Righi C, Bargellini P (2019) Contrast-enhanced ultrasonography of maternal and fetal blood flows in pregnant bitches. **Theriogenology** 125:129-134.

Papageorghiou AT, Yu CKH, Nicolaides, KH (2004) The role of uterine artery Doppler in predicting adverse pregnancy outcome. *Best Practice & Research. Clinical Obstetrics & Gynaecology* 18:383–396.

Pardi G, Marconi AM, Cetin I (2002) Placental-fetal interrelationship in IUGR fetuses: a review. *Placenta* 23:136-141.

Peterson, ME, Kutzler, MA (2011). **Small Animal Pediatrics** (1nd ed.). Saint Louis: Elsevier.

Polisca A, Scotti L, Orlandi, R, Brecchia G, Boiti C (2010) Doppler evaluation of maternal and fetal vessels during normal gestation in rabbits. *Theriogenology* 73:358-366.

Prabaharan V, Sivakumar A, Jayaganthan P, Raja S, Vijayarajan A and Sathesh Kumar S (2016) Dystocia due to fetal anasarca and ascities with live fetus in a doe. *International Journal of Environmental Science and Technology* 5(4): 2586-2589.

Prestes NC, Landim-Alvarenga FC (2006) **Obstetrícia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan p. 241.

Prestes NC, Landim-Alvarenga, FC (2006) **Obstetrícia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 241.

Reynolds LP, Caton JS, Redme DA, Grazul-Bilska AT, Vonnahme KA, Borowicz PP, et al. (2006) Evidence for altered placental blood flow and vascularity in compromised pregnancies. *The Journal of Physiology* 572:51-58.

Rim SJ, Poi HL, Lindner JR, Couture D, Ellegala D, et al. (2001) Quantification of cerebral perfusion with real-time contrast-enhanced ultrasound. *Circulation* 104: 2582–2587.

Roberts SJ (1986) **Veterinary obstetrics and genital diseases**. (Ed.). Ann Arbor: Edward Brothers, 1986.

Roberts VH, Lo JO, Salati JA, Lewandowski KS, Lindner JR, Morgan TK, Frias AE (2016) Quantitative assessment of placental perfusion by contrast-enhanced ultrasound in macaques and human subjects. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 369:1-8.

Rodrigues MIG (2008) **Tratamento da hipertensão pulmonar persistente do recém-nascido** 90f. Tese (Mestrado em Medicina) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal.

Rossi F, Leone V, Vignoli M, Laddaga E. & Terragni R (2008) Use of contrast-enhanced ultrasound for characterization of focal splenic lesions. **Veterinary Radiology and Ultrasound** 49:154-164.

Salomon LJ, Alfirevic Z, Berghella V, Bilardo C, Hernandez-Andrade E, Johnsen SL, Kalache K, Leung KY, Malinger G, Munoz H, Prefumo F, Toi A (2011) Practice guidelines for performance of the routine mid-trimester fetal ultrasound scan. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology** 37:116-126.

Scotti L, Di Salvo P, Bocci F, Pieramati C, Polisca A (2008) Doppler evaluation of maternal and fetal vessels during normal gestation in queen. **Theriogenology** 69:1111-1119.

Sorribas CE (2009) **Manual de emergências e afecções frequentes do aparelho reprodutor em cães**. 1. ed. São Paulo: Editora MedVet.

Souza TD, Mol JPS, Paixão TA, Santos RL (2017) Mortalidade fetal e neonatal canina: etiologia e diagnóstico **Revista Brasileira de Reprodução Animal** Belo Horizonte 41:639-649.

Sridevi P, Reena D, Safiuzamma M (2016) Diagnosis of fetal anasarca by real time ultrasonography in a pug bitch e its surgical management. I. J. **Animal Reproduction**. 37:.65-66.

Thatcher M-JD, Shille VM, Buhi WC, Alvarez IM, Concannon PW, Thibeault D, Cotton M (1994) Canine conceptus appearance and de novo protein synthesis in relation to the time of implantation. **Theriogenology** 41:p.1679-1692.

Toniollo GH, Vicente WRR (2003) **Manual de obstetrícia veterinária**. São Paulo: Livraria Varela, p.57-60.

Troedsson M, Sage AM (2001) Fetal/placental evaluation in the mare. In: BALL, B.A. (Ed) **Recent advances in equine reproduction**. Ithaca: International Veterinary Information Service.

Volta A, Manfredi S, Vignoli M, Russo M, England G, Rossi F et al (2014) Use of Contrast-Enhanced Ultrasonography in Chronic Pathologic Canine Testes. **Reproduction in Domestic Animals** 49:202-209.

Zanco, N.A. **Pesquisa anatômica das artérias e veias do funículo umbilical, sua ramificação e disposição na placenta de cães (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758)**. 1998. 187f. Tese (Doutorado em Anatomia dos animais domésticos) – Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo.

Zeo GB, Molina EM (2006) Uso de La ultrasonografía en el aparato reproductor. In: WAnKE, M. M.; GOBELLO, C. **Reproduccion em caninos y felinos domésticos** 1ºed. Buenos Aires: Inter-Médica 13:159-173.

Zhou YJ, Yuan ML, Li R, Zhu LP (2013) Real-Time Placental Perfusion on Contrast-Enhanced Ultrasound and Parametric Imaging Analysis in Rats at Different Gestation Time and Different Portions of Placenta. **PLoS ONE** 8: e58986.