

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

**ELASTOGRAFIA ACOUSTIC RADIATION FORCE IMPULSE
(ARFI), DOPPLER E ULTRASSONOGRRAFIA
CONTRASTADA DO BAÇO CANINO**

Marjury Cristina Maronezi
Médica Veterinária

2016

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

**ELASTOGRAFIA ACOUSTIC RADIATION FORCE IMPULSE
(ARFI), DOPPLER E ULTRASSONOGRRAFIA
CONTRASTADA DO BAÇO CANINO**

Marjury Cristina Maronezi

**Orientador: Prof. Dr. Marcus Antonio Rossi Feliciano
Coorientador: Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente
Coorientador: Prof. Dr. Júlio Carlos Canola**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia Veterinária.

2016

M354e Maronezi, Marjury Cristina
Elastografia acoustic radiation force impulse (ARFI), doppler e
ultrassonografia contrastada do baço canino/Marjury Cristina
Maronezi. – – Jaboticabal, 2016
x, 54 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Marcus Antônio Rossi Feliciano
Coorientador: Wilter Ricardo Russiano Vicente, Julio Carlos
Canola
Banca examinadora: Leandro Zuccolotto Crivellenti, Eliandra
Antonia Pires Buttler
Bibliografia

1. Cães. 2. Esplênico. 3. Ultrassom. 4. Contraste
Ultrassonográfico I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-073:636.7



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ELASTOGRAFIA ACOUSTIC RADIATION FORCE IMPULSE (ARFI),
DOPPLER E ULTRASSONOGRAFIA CONTRASTADA DO BAÇO
CANINO.

AUTORA: MARJURY CRISTINA MARONEZI

ORIENTADOR: MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO

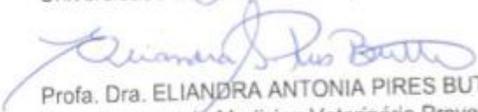
COORIENTADOR: JULIO CARLOS CANOLA

COORIENTADOR: WILTER RICARDO RUSSIANO VICENTE

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


Prof. Dr. MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. LEANDRO ZUCCOLOTTO CRIVELLENTI
Universidade de Franca / Franca/SP


Profa. Dra. ELIANDRA ANTONIA PIRES BUTTLER
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 12 de fevereiro de 2016

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Marjury Cristina Maronezi – Nascida em Francisco Beltrão (PR), 25 de Agosto de 1990. Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Centro Oeste – Unicentro (2009 - 2013). Durante a graduação foi bolsista do Programa Institucional de Ações Extensionistas. Atualmente é aluna de mestrado em Cirurgia Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias e bolsista FAPESP. Tem experiência na área Diagnóstico por Imagem em Pequenos Animais, colaborando no desenvolvimento das novas técnicas ultrassonográficas para cães e gatos.

“Amar ao próximo como a si mesmo: fazer pelos outros o que quereríamos que os outros fizessem por nós”. São Mateus.

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais, ao meu irmão e minha irmã. Por todo apoio durante a concretização de mais uma etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por estar sempre presente em minha vida, guiando a minha trajetória e aos meus amigos de luz que estão ao meu lado minuto a minuto me inspirando confiança, fé e abnegação.

Aos meus pais, Maria José e Lauder, aos quais sou eternamente grata, por ter tornado tudo isso possível e pelo apoio incondicional durante todos os dias de minha vida. Aos meus irmãos Júnior e Maria Gabriela, por todo amor e carinho. Amo muito todos vocês. Ao meu padrasto Miguel Valeriano e a minha madrasta Carla Pillar pelo apoio durante todo esse tempo.

Ao meu orientador e grande amigo Marcus Antônio Rossi Feliciano, pela dedicação, paciência, ensinamentos, conselhos, por acreditar em mim e me proporcionar a oportunidade de ingressar na pós graduação, sem você nada disso seria possível.

Aos grandes mestres professores Wilter Ricardo Russiano Vicente e Júlio Carlos Canola pela coorientação e por todos os ensinamentos.

A minha parceira de experimentos e amiga, Ana Paula Simões (Craudia) que embarcou comigo nessa caminhada e tornou tudo mais fácil e divertido. Esta caminhada jamais seria a mesma sem você.

A minha grande amiga Rozana Wendler, que me acompanha desde a graduação, aquela que nas horas difíceis não me abandonou, pela amizade, pela paciência, pelo abraço, pela mão que sempre se estendeu quando eu precisei.

A Fapesp pela concessão da bolsa e auxílio.

Quero agradecer aos meus amigos da família (prof Wilter) Obstetrícia e Reprodução, que estiveram sempre presentes durante essa jornada, Giovanna, Marcus, Ana Paula, Michelle, Renata, Ricardo Ramirez, Vivian, Mariana Kako, Vitor, Priscila Silva, Marina, Beatriz, Letícia, Felipe Barros, Priscila Del Aguila, Bitcha, Leandro, Eliandra, Dayane, Seu Edson e Lúcia e Dona Isilda.

Aos professores Leandro e Eliandra, por aceitarem participar da minha banca por todas as considerações na avaliação deste projeto, que certamente contribuíram muito para o engrandecimento do trabalho.

Aos amigos que me acolheram em Jaboticabal, Michelle, Dárcio, Marcus, Giovanna, Tekila, Felipe Kunz, Caxeta, Dani, Mariana Tiai, Aninha.

Agradeço a toda CTO, Anne Giorgia, Aline Cataneo, Eliz, Karla, Rosangela e Pati porque mesmo quando distantes, estavam presentes em minha vida.

À Universidade Estadual Paulista, Júlio de Mesquita Filho, por ter me acolhido e contribuído para minha formação profissional.

E por fim, a todas as pessoas que, de uma forma ou de outra contribuíram para este trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO -	xii
ABSTRACT –	xiii
LISTA DE FIGURAS –.....	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS –	xv
CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais	16
1. Introdução	16
2. Revisão de Literatura	16
2.1 Baço	16
2.2 Ultrassonografia Esplênica	17
2.3 Ultrassonografia Doppler	19
2.4 Elastografia ARFI	20
2.5 Ultrassonografia por Contraste com Microbolhas	23
3. Referências	26
CAPÍTULO 2 – Elastografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) em baço de cães saudáveis de diferentes idades.....	34
RESUMO.....	34
INTRODUÇÃO	35
MATERIAL E MÉTODOS	36
RESULTADOS	39
DISCUSSÃO	41
Referências	45
CAPÍTULO 3 – Ultrassonografia por contraste com microbolhas e Doppler na avaliação do baço de cães com erliquiose subclínica.	47
RESUMO.....	47
Introdução	48
Material e Métodos	49
Resultados e Discussão	50
Conclusão	52
Referências	52



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



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 11852/14 do trabalho de pesquisa intitulado "**Estudo da rigidez esplênica por meio da elastografia ARFI (*Acoustic Radiation Force Impulse*) em caninos saudáveis**", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcus Antonio Rossi Feliciano está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 07 de julho de 2014.

Jaboticabal, 07 de julho de 2014.


Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

ELASTOGRAFIA ACOUSTIC RADIATION FORCE IMPULSE (ARFI), DOPPLER E ULTRASSONOGRRAFIA CONTRASTADA DO BAÇO CANINO

RESUMO – O baço é um órgão que desenvolve inúmeras funções importantes no organismo e é um dos principais locais para o desenvolvimento de tumores primários, metastáticos e afecções do sistema hematopoiético, por isso realizar uma avaliação apurada neste órgão é de suma importância, em Medicina veterinária, particularmente em cães devido à importância econômica, afetiva e de similaridade científica para o homem. Todavia, a maioria dos métodos utilizados para o diagnóstico conclusivo de enfermidades esplênicas são métodos invasivos, sendo que os não invasivos perdem em sensibilidade e especificidade, dificultando que se proceda a um correto diagnóstico. Sendo assim, este estudo prospectivo visou avaliar a aplicabilidade das novas técnicas ultrassonográficas para avaliação esplênica de caninos, utilizando a elastografia ARFI (qualitativa e quantitativa), Doppler e ultrassonografia por contraste com microbolhas, com o intuito de determinar valores ainda não descritos na veterinária, as quais forneçam subsídios suficientes para se obter um diagnóstico conclusivo sobre a condição esplênica, nesta espécie. Os resultados obtidos nos cães saudáveis, por meio da ultrassonografia modo B apresentaram-se normais, sendo que na elastografia qualitativa, as porções esplênicas avaliadas apresentaram-se não deformáveis, com parênquima homogêneo de cor cinza escuro (hard). Na elastografia quantitativa os valores médios da velocidade de cisalhamento foram de 2,32 m/s para a cabeça, 2,16 m/s para o corpo e 2,25 m/s para a cauda do baço, não apresentando diferença estatística ($P > 0,05$). Ao exame contrastado, foram avaliados animais com erliquiose na fase subclínica, e estes apresentaram ao exame modo-B, esplenomegalia com presença de bordas arredondadas, ecotextura heterogênea e ecogenicidade mista do baço. Ao Doppler, verificou-se valores para os índices vasculares da artéria esplênica: velocidade sistólica: $22,59 \pm 8,07$ cm/s; velocidade diastólica: $5,25 \pm 4,66$ cm/s; e índice de resistência: $0,71 \pm 0,14$. Pela ultrassonografia com contraste observaram-se valores para wash-in de $5,31 \pm 0,7$ s, pico de realce de $18,56 \pm 2,90$ s e wash-out: $94,56 \pm 35,21$ s. A elastografia ARFI é um método recente que pode fornecer dados de base para o baço e permitir a utilização futura desta técnica, na avaliação de cães com doença esplênica. A ultrassonografia convencional do baço de cães com erliquiose associado com a utilização do método Doppler e ultrassonografia contrastada são importantes ferramentas na triagem diagnóstica e podem auxiliar a monitoração e evolução de animais na fase subclínica.

Palavras-chave: Cães, esplênico, ultrassom, contraste ultrassonográfico

ACOUSTIC RADIATION FORCE IMPULSE ELASTOGRAPHY DOPPLER AND CONTRAST-ENHANCED ULTRASONOGRAPHY OF DOGS SPLEEN

ABSTRACT – The spleen is an organ that develops many important functions in the body and the spleen is one of the main organs prone to the development of primary tumors, metastasis and a broad range of diseases of the hematopoietic system. Performance assessment of spleen is important. In veterinary medicine, principally in dogs because of economic importance, affective and scientific similarity to humans. However, the most of the methods used for conclusive diagnosis of splenic diseases are invasive methods, noninvasive lose in sensitivity and specificity difficulting proceed to a correct diagnosis. Thus, this study aimed to perform the ultrasound scan of dogs spleen using the elastographic (qualitative and quantitative) Doppler and contrast enhanced ultrasonography. Determining values not described in veterinary, which provide sufficient subsidies to get a conclusive diagnosis of the splenic condition in this species. The results in healthy dogs showed, all splenic segments visualized with the B-mode ultrasonography appeared normal. Different splenic segments examined with qualitative elastography were free of any detectable malformations and the images appeared as homogeneous dark areas. The mean shear velocity values were 2.32 m/s for head, 2.16 m/s for body and 2.25 m/s for tail of the spleen, and they did not vary between the different age groups ($P>0.05$). In dogs with ehrlichiosis in subclinical phase showed, by B-mode examination, observed splenomegaly with presence of rounded borders and heterogeneous echotexture and mixed echogenicity in spleen. For Doppler found values for vascular indices of the splenic artery: systolic velocity: 22.59 ± 8.07 cm/s; diastolic velocity: 5.25 ± 4.66 cm/s; and resistance index: 0.71 ± 0.14 . For contrast enhanced ultrasonography observed values for wash-in: 5.31 ± 0.7 s, peak enhancement: 18.56 ± 2.90 s and wash-out: 94.56 ± 35.21 s. The ARFI elastography is a new method and it may aid in the diagnosis and evaluation of splenic abnormalities routinely assessed in veterinary practice. The conventional ultrasonography of the spleen in dogs with ehrlichiosis associated with hemodynamic evaluation by Doppler and contrast enhanced ultrasonography are important tools for diagnosis trial and could help the monitoring clinical evolution in subclinical phase.

Keywords: Dogs, splenic, ultrasound, contrast-enhanced

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Imagem ultrassonográfica de baço canino normal.....	18
Figura 2:	Imagem ultrassonográfica Doppler da artéria esplênica (seta) em um cão. Nota-se a imagem ultrassonográfica do parênquima esplênico (B).....	20
Figura 3:	Imagem da elastografia qualitativa em região de cauda o baço canino normal (A). Ao lado dieito da figura, observa-se a preenseça do elastograma, correspondente à imagem da ultrassonografia convencional (à esquerda) (seta).....	21
Figura 4:	Imagem da elastografia quantitativa em região de corpo de baço canino normal (A), na qual se observa a demarcação pelo gate de uma porção do tecido esplênico e obtenção da velocidade de cisalhamento em m/s	22
Figura 5:	Imagem ultrassonográfica de baço canino, utilizando o método de contraste por microbolhas (seta).....	25

LISTA DE ABREVIATURAS

IR – índice de resistência vascular

IP – índice de pulsatividade

cm/s – centímetros por segundo

m/s – metros por Segundo

ml- milímetros

s - segundos

MHz - megahertz

S/D – sístole por diástole

PVS – pico de velocidade sistólica

CEUS - Contrast Enhanced Ultrasonography

ARFI – Acoustic Radiation Force Impulse

wash-in – tempo de entrada

wash-out – tempo de saída

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. Introdução

O baço possui múltiplas funções no organismo (linfáticas, imunológicas, circulatórias e hematopoiéticas), além de ser considerado um dos maiores órgãos reticuloendoteliais (FRY; MCGAVIN, 2007). Ademais, esse órgão é um dos principais locais para o desenvolvimento de tumores primários, metastáticos e afecções do sistema hematopoiético (MORRIS; DOBSON, 2007). Fatos que denotam importância singular para o diagnóstico de anormalidades do tecido esplênico, utilizando métodos que possam contribuir com outros métodos de avaliação dos pacientes.

O que dificulta o diagnóstico de massas no tecido esplênico é que essas podem ser consideradas neoplásicas ou não neoplásicas, fato esse que faz o diagnóstico conclusivo das alterações esplênicas em caninos, fundamental para prescrição de um tratamento adequado e efetivo. Atualmente tal diagnóstico é obtido principalmente por meio da análise histopatológica, método considerado invasivo (BJORLING 1999; RODASKY; PIEKARZ, 2009). Além disso, essa característica diagnóstica implica no desenvolvimento de técnicas complementares, como o Doppler, elastografia e ultrassonografia com contraste, que possam melhorar a sensibilidade e especificidade no diagnóstico de afecções esplênicas em cães, de modo não invasivo.

Em Medicina humana, novas técnicas de imagem tem sido implementadas e dentre elas ressalta-se a elastografia, ultrassonografia com contraste por microbolhas e Doppler com resultados bastante promissores, fato que facilita a utilização destes métodos em Medicina Veterinária, particularmente no cão pela sua importância econômica, afetiva e de similaridade científica para o homem.

Visto a gama de alterações que comprometem o parênquima esplênico de cães e a importância que este órgão apresenta para o organismo e suas funções, faz-se de grande relevância promover um diagnóstico preciso de alterações esplênicas. Por isso, a inclusão de novas técnicas para tal finalidade diagnóstica pode corroborar e aumentar a precisão na detecção e diferenciação dessas enfermidades esplênicas em cães.

Considerando a novidade do uso da elastografia ARFI, técnica Doppler e ultrassonografia com contraste na avaliação esplênica em cães, esse estudo teve como objetivo descrever a aplicabilidade destas técnicas na avaliação esplênica em cães, determinando padrões inéditos e relevantes para medicina veterinária.

2. Revisão de Literatura

2.1 Baço

O baço é o maior órgão linfoide secundário do organismo canino (REECE, 2006) e é responsável por desempenhar funções de extrema importância. Dentre as quais destacam-se a hematopoiese, remodelamento de células vermelhas, reservatório de hemácias e plaquetas, filtração e fagocitose sanguínea, remoção de inclusões intra-eritrocitária, além do envolvimento no metabolismo de ferro e funções imunológicas (TILSON, 2003).

Anatomicamente, o baço canino está localizado no abdômen cranial esquerdo e normalmente segue a curvatura maior do estômago, mas sua posição exata é variável, pois irá depender da distensão gástrica e do tamanho de outros órgãos abdominais adjacentes. De modo geral, a cabeça do baço está localizada abaixo do limite do gradil costal, com corpo e cabeça se estendendo ao longo da região hipocondríaca esquerda ou próximo ao abdômen ventral (NYLAND; MATTON, 2015).

O tecido esplênico é envolvido por uma cápsula muscular lisa e espessa que se estende como uma trabécula e sua rigidez é fornecida por uma estrutura de suporte tridimensional, que é formada pela cápsula e por trabéculas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2003).

O parênquima esplênico é dividido em polpa vermelha e branca. A polpa branca é responsável pela atividade imunológica do órgão e consiste primeiramente em linfócitos e células do sistema retículo endotelial, sendo distribuídas ao longo dos vasos arteriais (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2003). A polpa vermelha é um “filtro” altamente eficiente, que retira do sangue circulante o material particulado, como bactérias e células sanguíneas lesionadas ou envelhecidas, servindo ainda como reservatório de plaquetas e eritrócitos (GIL; FROES; FELICIANO, 2015), além de ser constituído por pequenos capilares, vasos venosos e um retículo preenchido por sangue e macrófagos (TILSON, 2003).

Quanto à sua vascularização, este órgão é altamente vascularizado e seu suprimento sanguíneo é feito essencialmente pela artéria esplênica, que é um ramo da artéria celíaca. A artéria esplênica se ramifica em três a cinco vasos primários, direcionados ao terço ventral do baço, com o primeiro ramo constituindo o

suprimento sanguíneo esquerdo do pâncreas e os restantes direcionados para o corpo do baço; posteriormente, estes últimos ramos emitem 20 a 30 ramificações esplênicas que adentram ao parênquima, sendo que estes últimos por sua vez, continuam no ligamento gastrosplênico até a curvatura maior do estômago, onde formam as artérias gástricas pequenas e artéria gastroepiplóica esquerda. Já a drenagem venosa é realizada por meio da veia esplênica (FOSSUM et al., 2005).

As características e funções acima apresentadas faz com que o baço tenha sua aparência macro e microscópica afetadas por uma grande variedade de doenças sistêmicas, inflamatórias e hematológicas (COWEL; TYLER; MEINKOTH, 1999). Anormalidades esplênicas, mais comumente apresentadas pela esplenomegalia, são quase sempre reconhecidas em cães durante o exame físico dos pacientes; sendo que a neoplasia é anormalidade mais comumente observada na clínica veterinária (MORRIS; DOBSON, 2007).

As esplenomegalias podem ser classificadas como localizada e generalizada. A esplenomegalia localizada é dividida em neoplásica ou não neoplásica e a generalizada é caracterizada como uma lesão difusa do baço e, este aumento pode ser ordenado em quatro tipos, de acordo com os mecanismos patológicos envolvidos: inflamação-infecção, hiperplasia linforreticular, congestão ou infiltração (NEER, 1996).

Em termos de sintomatologia de doença esplênica os sinais são geralmente inespecíficos (COUTO, 1992). Por isso, em casos de suspeita, o clínico precisa fazer uso de exames complementares, entre eles a radiografia e a ultrassonografia. Por meio da radiografia, normalmente, é possível visibilizar o baço, contudo a sua aparência pode variar amplamente, dificultando a avaliação do órgão. A ultrassonografia é o procedimento de escolha porque pode mostrar de forma acurada a imagem e o tamanho do baço e, permite monitorar a resposta do paciente à terapia (COUTO, 2010).

2.2 Ultrassonografia Esplênica

Para realização dos exames ultrassonográficos do parênquima esplênico em cães, é indicada a realização de tricotomia ampla do abdômen, estendendo-se do apêndice xifoide até os últimos pares de glândulas mamárias (FELICIANO et al.,

2007). Ademais, é ideal que se faça jejum alimentar de no mínimo oito horas e a administração de antifiséticos (FELICIANO; GARCIA; VICENTE, 2015). O exame pode ser realizado pelo contato direto do transdutor com a superfície do órgão em interface com o gel condutor (JOHNSTON et al., 1991; DAVIDSON; BAKER, 2009).

O tamanho do baço nos cães é variável, o que acarreta na necessidade de modificações na abordagem ultrassonográfica para cada paciente (HELCHT, 2011). Normalmente, o paciente é posicionado em decúbito dorsal, mas pode ainda ser realizada em decúbito lateral direito, para facilitar a delimitação do órgão (GIL; FROES; FELICIANO, 2015). Em geral, a avaliação esplênica é feita em cortes longitudinais e transversais e a frequência dos transdutores deve ser em torno de 7,5 MHz ou mais (NYLAND; MATTON, 2015).

A estrutura esplênica é visibilizada na região hipocondríaca esquerda, apresenta estrutura capsular lisa, fina e com contornos ecogênicos, exceto na região do hilo. Esse órgão é considerado hiperecoico em relação ao fígado e ao córtex renal, apresentando ecotextura homogênea (Figura 1) (GIL; FROES; FELICIANO, 2015).

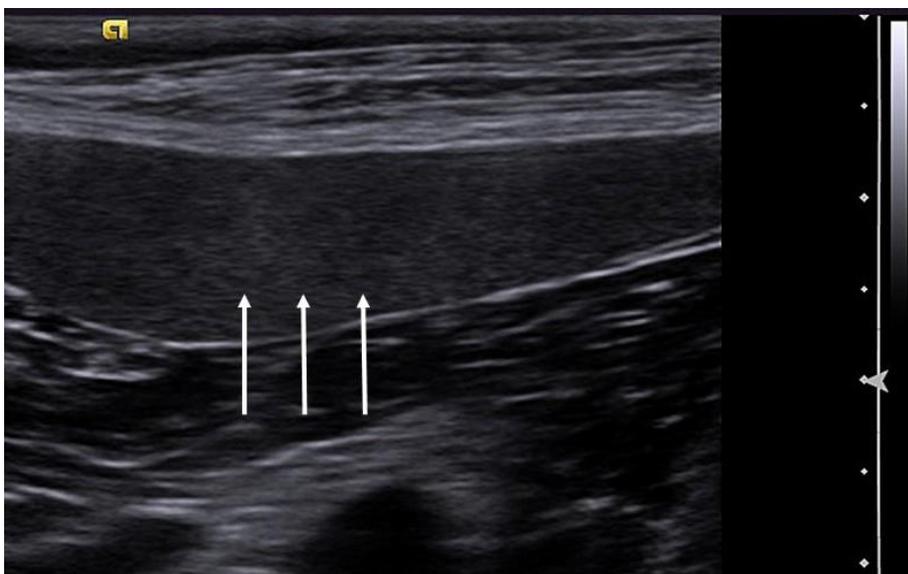


Figura 1. Imagem ultrassonográfica de baço canino normal (setas) (*Arquivo pessoal*)

Os ramos das veias esplênicas são visibilizados como estruturas anecoicas tubulares dentro do parênquima esplênico e saem do órgão pelo hilo. As artérias esplênicas, normalmente, não são vistas pela ultrassonografia convencional (HELCHT, 2011).

A ultrassonografia convencional é extremamente útil na avaliação dos pacientes caninos. Usualmente, a realização da varredura esplênica é indicada nos casos de esplenomegalia generalizada, massas esplênicas ou abdominal, histórico de trauma, anemia, leucocitose, hemoperitônio, estadiamento de neoplasias e procura de metástase (GIL; FROES; FELICIANO, 2015).

Entretanto, a diferenciação das alterações malignas e benignas pela ultrassonografia convencional é limitada (WARREN-SMITH, 2012), dessa forma, a aspiração por agulha fina ou biopsia com tru-cut são técnicas comumente utilizadas para tal fim, contudo são consideradas alternativas invasivas e que necessitam geralmente de sedação ou anestesia geral (HOLDSWORTH et al., 2014).

2.3 Ultrassonografia Doppler

Dentre os recentes avanços na tecnologia dos equipamentos ultrassonográficos, uma técnica que tem obtido destaque na avaliação da função de vários órgãos é a ultrassonografia Doppler, a qual proporciona em tempo real informações valiosas sobre a característica de irrigação dos órgãos parenquimatosos, de maneira não invasiva e segura (CARRILLO et al., 2012).

A ultrassonografia Doppler é uma técnica que consiste na interação do ultrassom com o fluxo sanguíneo, onde o efeito Doppler ocorre quando o movimento das células sanguíneas é refletido para o ultrassom (NYLAND; MATTON, 2015).

A aplicação deste método é recente e têm demonstrado bons resultados em animais, sendo que sua eficácia tem sido comprovada no estudo hemodinâmico dos tecidos (FELICIANO et al., 2012) e, especificamente no baço, pelo estudo da neovascularização tecidual em alterações esplênicas, avaliação de neoplasias e torção esplênica, onde nesta última é notado a ausência de fluxo sanguíneo (GIL; FROES; FELICIANO, 2015).

Durante o estudo da vascularização esplênica em cães, observa-se principalmente a artéria e veia esplênica, ambas visibilizadas na região hilar do órgão, além de ser possível detectar os ramos destes vasos principais (NYLAND; MATTON, 2015).

As principais características avaliadas ao modo Doppler do baço são a presença ou não de neovascularização e a determinação dos índices

dopplervelocimétricos: velocidade do pico sistólico (VPS); velocidade diastólica (VD); o índice de resistência vascular ($IR = V_{max} - V_{min} / V_{max}$); e de pulsatividade ($IP = V_{max} - V_{min} / V_{média}$) (MIDDLETON et al., 1989; GUMBSCH et al., 2002; CARVALHO et al., 2008). Na avaliação do fluxo sanguíneo esplênico ao traçado Doppler, observa-se fluxo de baixa resistibilidade, ou seja, pico sistólico amplo e contínuo, com pico diastólico alto ou diástole cheia, além de pico sistólico sem janela espectral, semelhante ao padrão espectral das artérias hepáticas e renais (GIL; FROES; FELICIANO, 2015) (Figura 2).

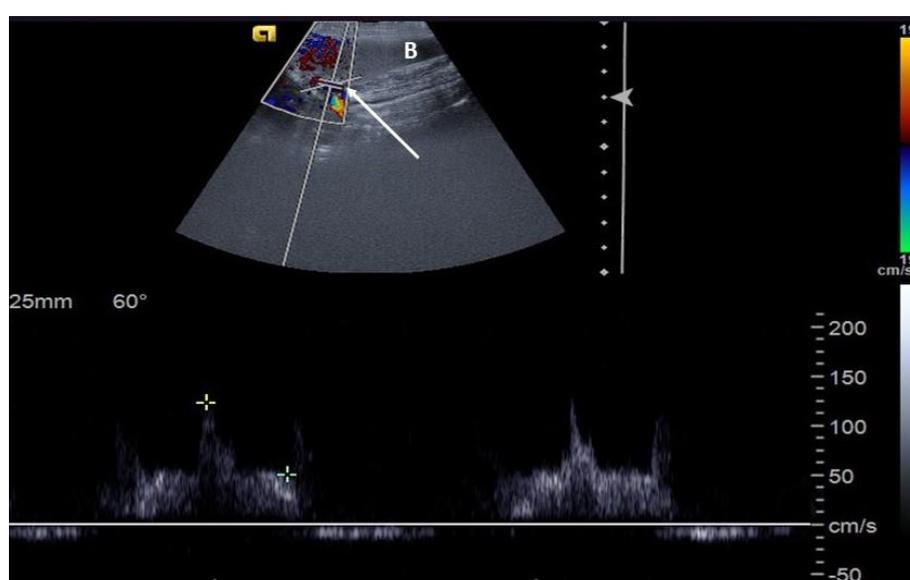


Figura 2. Imagem ultrassonográfica Doppler da artéria esplênica (seta) em um cão. Nota-se a imagem ultrassonográfica do parênquima esplênico (B) (*Arquivo pessoal*).

2.4 Elastografia ARFI

Em Medicina humana, novas técnicas de imagem têm sido elaboradas e, dentre elas, ressalta-se a elastografia. Este método ultrassonográfico consiste em uma extensão tecnicada de uma das mais antigas ferramentas da clínica médica, a palpação, na qual se avalia a forma e a rigidez do órgão de interesse (OPHIR, 2002).

A elasticidade é a propriedade de um corpo ou substância a qual permite que eles sejam deformados quando sujeitos a uma força externa e possam retomar a sua forma original ou o tamanho, quando esta é removida. Essa deformação é

inversamente proporcional à rigidez e ao tempo de reparo do tecido (GODDI et al., 2012).

A elastografia foi desenvolvida no início dos anos noventa, sendo considerado método muito promissor que avalia a elasticidade dos tecidos, sendo capaz de estudar a dureza de tecidos. Desde então, vários métodos para avaliação da elasticidade tecidual têm sido propostos em elastografia (por compressão, acoustic radiation force impulse - ARFI e real-time shear velocity - RSV) (DUDEA et al., 2011).

O método ARFI é uma técnica de imagem segura e não invasiva, que fornece medidas quantitativas e qualitativas da rigidez dos tecidos, com variabilidade interobservador reduzida. Para avaliação qualitativa, são utilizados impulsos acústicos curtos e de alta intensidade para deformar os elementos do tecido e criar um mapa estático (elastograma) de rigidez tecidual relativa. Esse método fornece mapeamento em escala de cinza que demonstra a rigidez relativa dos tecidos da região estudada, comparando-se com a imagem ultrassonográfica convencional correspondente (Figura 3). De forma geral, as áreas mais claras representam os tecidos mais deformáveis do que as áreas escuras (GODDI et al., 2012).

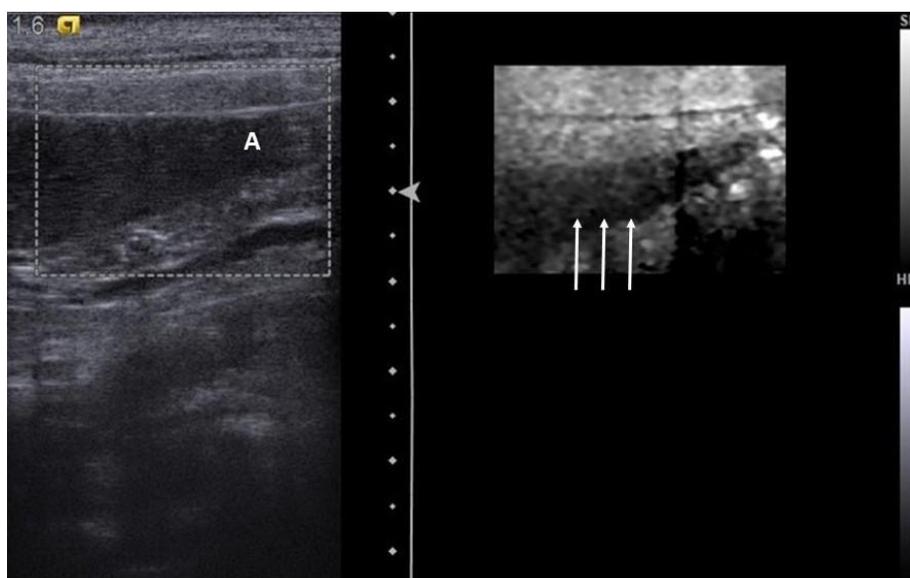


Figura 3. Imagem da elastografia qualitativa em região de cauda o baço canino normal (A). Ao lado direito da figura, observa-se a presença do elastograma, correspondente à imagem da ultrassonografia convencional (à esquerda) (seta) (Arquivo pessoal).

Na avaliação quantitativa ARFI, é utilizado um impulso acústico primário em direção à região a ser examinada, o qual promove a formação de ondas de pressão em propagação, capaz de deformar os tecidos, ocorrendo à captação da velocidade de propagação das ondas de pressão (cisalhamento) (Figura 4). A velocidade de propagação e atenuação das ondas estão relacionadas com a rigidez e viscoelasticidade do tecido, sendo que as ondas apresentam maior velocidade em tecidos rígidos (COMSTOCK, 2011).

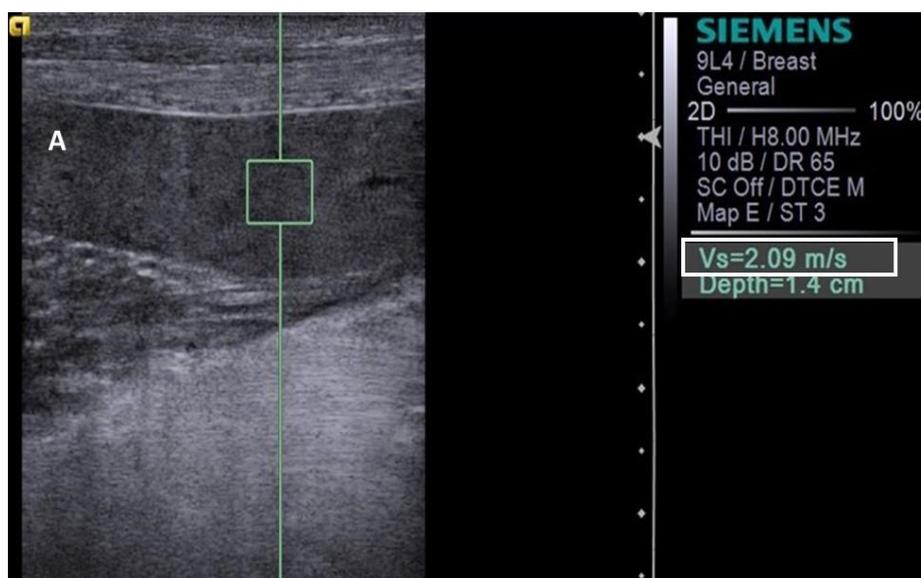


Figura 4. Imagem da elastografia quantitativa em região de corpo de baço canino normal (A), na qual se observa a demarcação pelo gate de uma porção do tecido esplênico e obtenção da velocidade de cisalhamento em m/s (*Arquivo pessoal*).

Em medicina humana, a elastografia tem sido utilizada principalmente para a identificação e diferenciação de neoplasias mamárias, diagnóstico de tumores prostáticos, monitoramento de lesões focais e fibróticas, estudo das propriedades estruturais dos rins (SRINIVASAN et al., 2004).

Em veterinária, o uso da elastografia ARFI é recente e experimental, sendo utilizada na avaliação de neoplasias mamárias em cadelas (FELICIANO et al., 2014a), padronização de valores de referência para avaliação hepática, renal e esplênica em caninos adultos (HOLDSWORTH et al., 2014), baço de gatos adultos (FELICIANO et al., 2014b), próstata e testículos de cães (FELICIANO et al., 2015) e rim de gatos (GARCIA et al., 2015).

Especificamente sobre a avaliação esplênica do baço em cães, utilizando a técnica ARFI, Holdsworth et al. (2014) desenvolveram estudo inicial utilizando animais adultos. Porém, realizou apenas a técnica ARFI quantitativa e o número de animais foi reduzido (15 caninos), com alta variabilidade racial, além destes pacientes não serem avaliados clinicamente antes da realização do estudo. Estes autores sugerem que novos estudos devem ser realizados, visando padronizar a técnica em um maior número de animais, de diferentes idades, tomando-se cuidado com as variações de peso e outras particularidades.

2.5 Ultrassonografia por Contraste com Microbolhas

A ultrassonografia por contraste com microbolhas (CEUS - “Contrast Enhanced Ultrasonography”) é um método inovador que avalia alterações da perfusão vascular em diversos órgãos (NYMAN et al., 2005).

Esse novo método ultrassonográfico estuda de forma singular a capilarização tecidual por meio da administração intravenosa de microbolhas, as quais se difundem pela macro e microcirculação (por possuírem o mesmo tamanho das hemácias), além de refletirem muito bem ao ultrassom, assim capazes de aumentar de forma considerável o sinal Doppler, o que permite a detecção de fluxos difíceis de identificação (NOGUEIRA et al., 2002).

As microbolhas são constituídas por um gás de elevado peso molecular, tal como os perfluorocarbonos. Esses agentes têm o diâmetro entre 1 e 6 μ m, fato esse que permite sua passagem por meio dos leitos capilares. Sua utilização é segura e livre de efeitos adversos hemodinâmicos, pois os agentes permanecem estritamente em região intravascular, sem difusão intersticial ou excreção de urina (KALANTARINIA; OKUSA, 2007).

Os meios de contrastes variam de acordo com tipo de gás contido nas microbolhas. Há dois grupos principais: os de gás altamente solúveis, que usam ar, como o Echovist® (Schering) e o Lelovist® (Schering) e os que utilizam gás de baixa solubilidade e mais estáveis, como os gases perfluoretos e entre eles estão o Sono Vue® (Braco, Atlanta), Optisom® (MIB, Amersham Medical) e o Sonazoid® (Amersham Medical) (FELICIANO; GARCIA; VICENTE, 2015).

A ultrassonografia com contraste por microbolhas é considerada em alguns casos na medicina, como uma técnica superior à ressonância magnética e tomografia computadorizada (contrastadas), no que se refere à avaliação de nódulos focais em órgãos parenquimatosos; além de não ser necessária a realização de anestesia do paciente, não emitir radiação e fornecer uma imagem em tempo real (HAERS; SAUNDERS, 2009). Adicionalmente, este método vem sendo utilizado para avaliação da viabilidade miocárdica, detecção de neoplasia mamária em mulheres, isquemia intestinal, doença arterial periférica, enfermidades vasculares hepáticas e no estudo da perfusão renal (KALANTARINIA; OKUSA, 2007).

Em medicina veterinária, os estudos que utilizam esse método de imagem são recentes. Em cães, há pesquisas descrevendo a utilização desta técnica para a avaliação hepática de animais saudáveis e hepatopatas, avaliação da perfusão renal (WALLER et al., 2007) e avaliação prostática (BIGLIARD; FERRARI, 2011). Já em gatos domésticos, tem estudos que avaliaram os testículos desses animais (BRITO et al., 2015)

Em relação aos achados ou características observadas por meio deste método, o exame contrastado estabelece parâmetros relacionados ao preenchimento tecidual homogêneo ou heterogêneo (VOLTA et al., 2014); além de tempos relacionados com sua presença nos tecidos, sendo que nesta última avaliação é possível mensurar o tempo entre a injeção do contraste até o aparecimento da microbolhas, avaliando: o início da perfusão do órgão (“wash-in”); o pico de contraste (realce), que é momento de maior perfusão após o “wash in”; e tempo de saída total do contraste do parênquima (“wash-out”) (Figura 5). O padrão de preenchimento microvascular dos contrastes ultrassonográficos possibilita determinar precocemente pequenas massas em estágio inicial de evolução e de hipervascularização em tumores agressivos e auxilia na diferenciação entre tumores malignos e benignos, de forma não invasiva (LOCK et al., 2009).

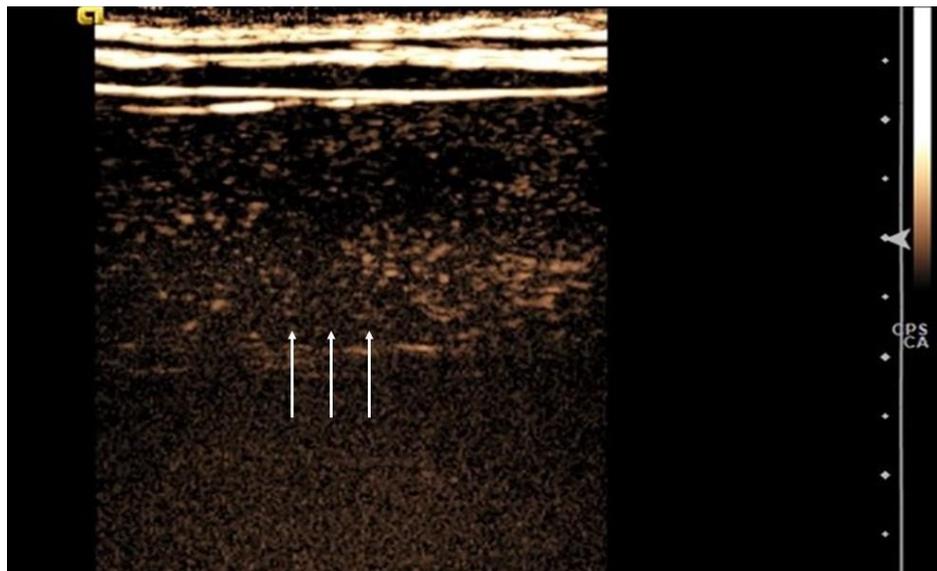


Figura 5. Imagem ultrassonográfica de baço canino, utilizando o método de contraste por microbolhas (setas) (*Arquivo pessoal*).

2. Referências

BIGLIARDI, E.; FERRARI, L. Contrast-enhanced ultrasound of the normal canine prostate gland. **Veterinary Radiology & Ultrasound**. v.52, p.107-110, 2011.

BJORLING, D. E. Baço In: BOJRAB, M. J. **Técnicas Atuais em Cirurgia de Pequenos Animais**. 3 .ed. São Paulo: Roca, 1996. p.511-515.

BRITO, M. B. S.; FELICIANO, M. A. R.; COUTINHO, L. N.; USCATEGUI, R. R.; SIMOES, A. P. R.; MARONEZI, M. C.; ALMEIDA, V. T.; CRIVELARO, R. M.; GASSER, B.; PAVAN, L.; VICENTE, W. R. R. Doppler and Contrast-enhanced ultrasonography of testicles in adults domestic felines. **Reproduction in Domestic Animals (1990)**, v. 50, n. 5, p. 730-734, 2015.

CARRILLO, J.; SOLER, M.; LUCAS, X. & AGUT, A. Colour and Pulsed Doppler Ultrasonographic Study of the Canine Testis. **Reproduction in Domestic Animals**, p. 655-659, 2012.

CARVALHO, C.; CHAMMAS, M.; CERRI, G. Princípios físicos do Doppler em ultrassonografia. **Ciência Rural**, p. 872-879, 2008.

COMSTOCK, C. Ultrasound elastography of breast lesions. **Ultrasound Clinics**, v.6, p.407-415, 2011.

COUTO, C.G. Lindodenopatia e Esplenomegalia. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos animais**. 4.ed. Rio de Janeiro: Mosby Elsevier, 2010, p.1261-1270.

COUTO, C. G. Moléstias dos Linfonodos e Baço. In: ETTINGER, S. F.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária: Moléstias do Cão e do Gato**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1992. v.4, p.2328-2348.

COWELL, R.L.; TYLER, R.D.; MEINKOTH, J.H. The Spleen. In: COWELL, R.L.; TYLER, R.D. **Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat**. 2.ed. St. Louis: Mosby, 1999. p.1443-1447.

DAVIDSON, A. P. & BAKER, T. W.. Reproductive Ultrasound of the Dog and Tom. **Topics in Companion Animal Medicine**, p. 64-70, 2009.

DUDEA, S. M.; GIURGIU, C. R.; DUMITRIU, D.; et al. Value of ultrasound elastography in the diagnosis and management of prostate carcinoma. **Medical Ultrasonography**, v.13, p.45-53, 2011.

FELICIANO, M. A. R.; GARCIA, P. H. S.; VICENTE, W. R. R. Introdução à Ultrassonografia. In: FELICIANO, M. A.; CANOLA, J. C.; VICENTE, W. R. R. **Diagnóstico por Imagem em Cães e Gatos**. São Paulo: MedVet, 2015. v, 1. p. 53-57.

FELICIANO, M. A. R.; MARONEZI, M. C.; SIMÕES, A. P. R.; USCATEGUI R., R.; MACIEL, G. S.; CARVALHO, C. F.; J. C. CANOLA.; W. R. R. VICENTE, W. R. R. Acoustic radiation force impulse elastography of prostate and testes of healthy dogs: preliminary results. **Journal of Small Animal Practice**. v.56, n. 5, p. 320-324, 2015.

FELICIANO, M. A. R.; MARONEZI, M. C.; PAVAN, L.; CASTANHEIRA, T. L.; SIMÕES, A. P. R.; CARVALHO, C. F.; CANOLA, J. C.; T. L. CASTANHEIRA, A. P. R. SIMÕES, C. F. CARVALHO, J. C. CANOLA AND W. R. R. VICENTE, W. R. R. ARFI elastography as complementary diagnostic method of mammary neoplasm in female dogs – preliminary results. **Journal of Small Animal Practice**. v.55, n. 10, p. 504-508, 2014a.

FELICIANO, M. A. R.; MARONEZI, M. C.; CRIVELLENTI, L. Z., CRIVELLENTI.; S. B.; SIMÕES A. P. R.; BRITO, M. B. S.; GARCIA, P. H. S.; VICENTE, W. R. R. Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of the spleen in healthy adult cats – a preliminary study. **Journal of Small Animal Practice**. v.56, n. 3, p. 180-183, 2014b.

FELICIANO, M. A. R.; VICENTE, W. R. R.; SILVA, M. A. M. Conventional and Doppler ultrasound for the differentiation of benign and malignant canine mammary tumours. **Journal Small Animal Practice** v. 53, n. 6, p 332-337, 2012.

FELICIANO, M. A. R.; MUZZI, L. A. L.; LEITE, C. A. L.; et al. Two-dimensional conventional, high resolution two-dimensional and three-dimensional ultrasonography in the evaluation of pregnant bitch. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 5, p 1333-1337, 2007.

FOSSUM, T. W. Surgery of the spleen. In: FOSSUM, T. W., HEDLUND, C. S.; JOHNSON, A. L.; SCHULZ, K. S.; SEIM III, M. B.; WILLARD, M. D. **Small Animal Surgery**. 2. ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2005. p. 624- 634.

FRY, M. M.; MCGAVIN, M. D. Bone marrow, blood cells, and lymphatic system. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 4. ed. St Louis: Mosby Elsevier, 2007. p .743-832.

GARCIA, P. H. S.; FELICIANO, M. A. R.; CARVALHO, C. F.; CRIVELLENTI, L. Z.; MARONEZI, M. C.; ALMEIDA, V. T.; USCATEGUI, R. R.; VICENTE, W. R. R. Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of kidneys in healthy adult cats: preliminary results. **Journal of Small Animal Practice**, v. 56, n. 8, p. 505-509, 2015.

GIL, E. M. U.; FROES, T. R.; FELICIANO, M. A. R. Baço. In: FELICIANO, M. A.; CANOLA, J. C.; VICENTE, W. R. R. **Diagnóstico por Imagem em Cães e Gatos**. São Paulo: MedVet, 2015. v, 1. p. 579-601.

GODDI, A.; BONARDI, M.; ALESSI, S. Breast elastography: a literature review. **Journal of Ultrasound**, v. 15, n. 3, p.192-198, 2012.

HAERS, H.; SAUNDERS, J. H. Review of clinical characteristics and applications of contrast-enhanced ultrasonography in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, p. 460-470, 2009.

HECHT, S. Baço. In: PENNINCK, D.; D' ANJOU, M. A. **Atlas de Ultrassonografia de Pequenos Animais**, 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A, 2011. p. 261-278.

HOLDSWORTH, A.; BRADLEY, K.; BIRCH, S. et al. et al. Elastography of the normal canine liver, spleen and kidneys. **Vet Radiol Ultrasound**, v. 00, p. 1–8, 2014.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Sistema imunitário. In: In: _____. (Ed.). **Histologia Básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A, 2004. p. 276-280.

JOHNSTON, G. R.; FEENEY, D. A.; RIVERS, B. & WALTER , P. A.. Diagnostic Imaging of the Male Canine Reproductive Organs: Methods and Limitations. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, pp. 553-589, 1991.

KALANTARINIA, K.; OKUSA, M. D. Ultrasound contrast agents in the study of kidney function in health and disease. **Drug Discovery Today: Disease Mechanisms**, v.4, p.153-158, 2007.

LOCK, G.; SCHMIDT, C.; HELMICH, F.; STOLLE, E. & DIECKMANN, K.-P. Early Experience With Contrastenhanced Ultrasound in the Diagnosis of Testicular Masses: A Feasibility Study. **Urology**, p. 1049-1053, 2009.

MATTOON, J. S.; NYLAND, T. G. Spleen. In: _____. (Ed.). **Small Animal Diagnostic Ultrasound**. 3. ed. St Louis: Elsevier, 2015. p. 400-327.

MIDDLETON, W. D.; THORNE, D. A. & MELSON, G. L. Color Doppler Ultrasound of Normal Testis. **American Journal of Roentgenology**, p. 293-297, 1989.

NEWELL, S.; MAHAFFEY, M.; BINHAZIM, A. & GREENE, C.. Paraprostatic cyst in a cat. **Journal of Small Animal Practice**, p. 399-401, 1992.

MORIS, J.; DOBSON J. Tumores variados. **Oncologia em Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 2007. p. 272-278.

NEER, T. M. Clinical Approach to splenomegaly in dogs and cats. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 18, n. 1, p. 35-46, 1996.

NOGUEIRA, A. C.; MORCERF, F.; MORAES, A. V.; CARRINHO, M.; DOHMANN, H. Ultra-sonografia com agentes de contrastes por microbolhas na avaliação da perfusão renal em indivíduos normais. **Revista Brasileira de Ecocardiografia**, v.15, p.74-78, 2002.

NYMAN, H. T.; KRISTENSEN, A. T.; KJELGAARD-HANSEN, M.; MCEVOY, F. J. Contrast-enhanced ultrasonography in normal canine. **Vet Radiology and Ultrasound**, pp. 243-250, 2005.

OPHIR, J.; ALAM, K. S.; GARRA, B. S. et al. "Elastography: Imaging the elastic Properties of soft Tissues with ultrasound". **Journal Medical Ultrasonics**. v. 29, n. 4, p 155-171, 2002.

REECE, W. O. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 41 – 42.

RODASKI, S; PIEKARZ, C. H. Diagnóstico e estadiamento clínico In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. **Oncologia em Cães e Gatos**. 11. ed. Roca, São Paulo, Brazil p. 52-73, 2009.

SRINIVASAN, S.; KROUSKOP, T.; OPHIR, J. A quantitative comparison of modulus images obtained using nanoindentation with strain elastograms. **Ultrasound in Medicine e Biology**, v.30, p.899-914, 2004.

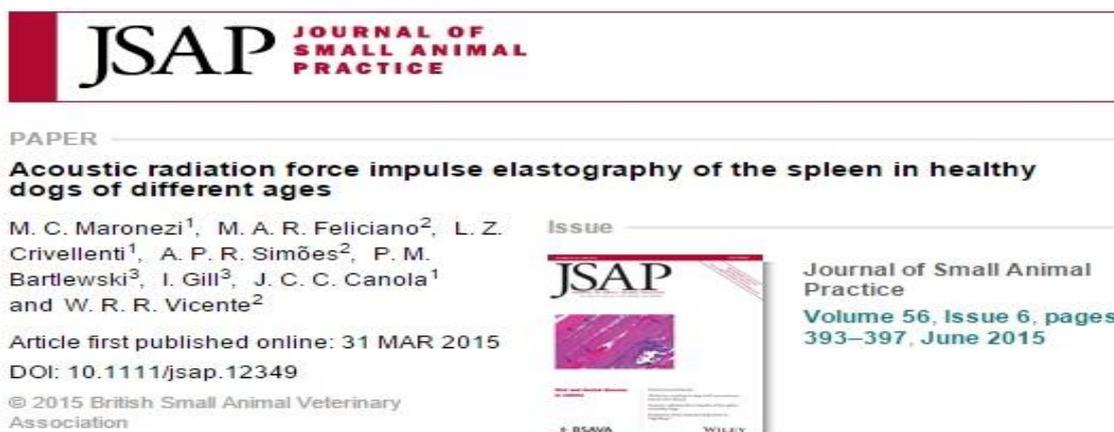
TILSON, D. M. Spleen In: SLATTER, D. H. **Textbook of Small Animal Surgery**. 3.ed. Philadelphia: WB Saunders, 2003. p. 1046-1062.

VOLTA, A.; MANFREDI, S.; VIGNOLI, M.; RUSSO, M.; ENGLAND, G.; ROSSI, F.; BIGLIARDI, E.; DI IANNI, F.; PARMIGIANI, E.; BRESCIANI, C.; Gnudi, G. Use of Contrast-Enhanced Ultrasonography in Chronic Pathologic Canine Testes. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 49, n. 2, p. 202-209, 2014.

WALLER, K. R.; O'BRIEN, R. T.; ZAGZEBSKI, J. A. Quantitative contrast ultrasound analysis of renal perfusion in normal dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**. v.48, p.373-377, 2007.

WARREN-SMITH, C. M. R.; ANDREW, S.; MANTIS, P; LAMB, C. R. Lack of associations between ultrasonographic appearance of parenchymal lesions of the canine liver and histological diagnosis. **Journal Small Animal Practice**. v.53, p.168–173, 2012.

CAPÍTULO 2 – Elastografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) em baço de cães saudáveis de diferentes idades



RESUMO

Objetivos: Determinar características elastográficas do parênquima esplênico em cães clinicamente saudáveis de diferentes idades, a fim de estabelecer valores de referência quali-quantitativos para esta técnica.

Material e Métodos: Foram avaliados trinta e três cães hígidos categorizados em jovens, adultos e senis. Com a ultrassonografia modo B foi examinado o baço na sua ecotextura, ecogenicidade e tamanho. Usando a elastografia qualitativa, o baço (cabeça, corpo e cauda) foi examinados pela homogeneidade e presença de deformidades. A velocidade de cisalhamento em diferentes segmentos esplênicos foi então avaliada quantitativamente.

Resultados: Todos os segmentos esplênicos visualizados com a técnica ultrassonográfica modo B apresentaram-se normais. Na elastografia qualitativa os diferentes segmentos esplênicos examinados apresentaram-se não deformáveis, com parênquima homogêneo de cor cinza escuro. Na elastografia quantitativa os valores médios da velocidade de cisalhamento foram de 2,32 m/s para a cabeça, 2,16 m/s para o corpo e 2,25 m/s para a cauda do baço, não apresentando diferença estatística entre os grupos ($P > 0,05$).

Significância clínica: Elastografia Quantitativa e Qualitativa em baço de cães clinicamente saudáveis, de diferentes idades, pode ser realizada facilmente. Além de ajudar no diagnóstico e avaliação de anormalidades esplênicas encontradas na rotina veterinária com o uso da ultrassonografia modo B.

INTRODUÇÃO

Atualmente, há um aumento no interesse de técnicas não invasivas para avaliar as propriedades viscoelásticas em tecidos de órgãos internos, usando novas modalidades de imagem baseadas na ultrassonografia. As análises ultrassonográficas da deformação tecidual podem ser avaliadas com a elastografia por compressão ou sem compressão por meio da elastografia ARFI (acoustic radiation force impulse) (Gallotti et al. 2010). A elastografia ARFI é uma técnica de imagem, segura e não invasiva, que fornece medidas quantitativas e qualitativas da rigidez dos tecidos com uma variabilidade interobservador reduzida (Dudea et al. 2011, Feliciano et al. 2014).

Para avaliação qualitativa, este método utiliza impulsos acústicos curtos e de alta intensidade para deformar os elementos do tecido e criar um mapa estático (elastograma) de rigidez tecidual relativa. Esse método fornece um mapeamento em escala de cinza que demonstra a rigidez relativa dos tecidos da região estudada, comparando-se com a imagem ultrassonográfica convencional correspondente. De forma geral, as áreas mais claras representam os tecidos mais deformáveis que as áreas escuras (Goddi et al. 2012). Alternativamente o estudo quantitativo ARFI utiliza um impulso acústico primário em direção a uma região de interesse, promovendo a formação de ondas de pressão em propagação capaz de deformar os tecidos, captando a velocidade de propagação das ondas de pressão (cisalhamento). A velocidade de propagação e a atenuação das ondas estão relacionadas com a rigidez e viscoelasticidade do tecido, as ondas apresentam maior velocidade em tecidos rígidos (Comstock, 2011).

Em humanos, a elastografia ARFI tem sido usada, primariamente, para identificar e diferenciar vários tipos de tumores mamários e prostáticos. Em adição, a elastografia esplênica está sendo usada no diagnóstico de alterações hepáticas (Bota et al. 2010, Dudea et al. 2011, Gao et al. 2012). Em medicina veterinária, esta técnica é recente e experimental e tem sido usada para detectar tumores mamários e determinar características de normalidade em fígado, baço e rim de cães (Feliciano et al. 2014, Holdsworth et al. 2014).

Diagnosticar malformações esplênicas é de extrema importância, pois este órgão está envolvido em funções linfáticas, imunes, circulatórias e hematopoiéticas (Fry & McGavin 2007). O baço canino é um dos principais locais para o

desenvolvimento de tumores primários, metastáticos e do sistema hematopoiético (Morris & Dobson, 2007). O diagnóstico conclusivo de várias afecções esplênicas é obtido, principalmente, por meio da análise histopatológica, sendo a amostra coletada por biópsia guiada pelo ultrassom ou após a esplenectomia (Rodaski & Piekarz 2009). O primeiro estudo que avaliou a velocidade (avaliação quantitativa) do parênquima esplênico (com duas profundidades: 0 a 2 cm e 2 a 4 cm) em cães adultos, com avaliação dos fatores de peso, profundidade e sexo nos valores da elastografia foi realizado por Holdsworth et al. (2014). Entretanto, a elastografia quantitativa em diferentes regiões esplênicas (cabeça, corpo e cauda) de cães de diferentes idades e a elastografia qualitativa em cães, ainda precisa ser avaliada.

Considerando à aplicabilidade da Elastografia ARFI em medicina humana e a escassez dos estudos sobre esta técnica em pequenos animais, o objetivo deste estudo foi avaliar o parênquima esplênico em cães hípidos de diferentes idades, e determinar os padrões qualitativos e quantitativos (velocidade de cisalhamento), ainda não descritos para esta técnica.

MATERIAL E METÓDOS

Este estudo foi realizado após aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP/Jaboticabal (11852/14). Trinta e três cães hípidos, com peso de 2 a 10 kg foram selecionados para este estudo. Os animais foram considerados saudáveis, baseado no exame físico, hemograma completo (incluindo perfil bioquímico) e urinálise com avaliação da relação proteína/creatinina na urina (UPC). Os cães foram divididos em três diferentes grupos: Grupo 1 (n=11), animais jovens: 3 meses a 1 ano de idade (idade média=6,0 ± 3,3 e peso médio=3,3±1,0 kg); Grupo 2 (n=17), adultos: 1 a 7 anos de idade (idade média=3,1 ± 1,6 e peso médio=6,0±1,8 kg); Grupo 3 (n=5), animais velhos: mais de 7 anos (idade média=9,4±2,2 anos e peso médio = 8,0±1,6 kg).

Ultrassonografia modo B

Realizou-se uma tricotomia ampla do abdômen desses animais, a fim de permitir a ultrassonografia, antes do exame o gel foi aplicado sobre o abdômen do

animal, para assegurar um adequado contato. Não houve necessidade de sedação. Todas as avaliações foram efetuadas por um único operador experiente. Para a ultrassonografia modo B utilizou-se um transdutor linear de 9,0 MHz com o aparelho ACUSON S2000/SIEMENS, com sistema de diagnóstico (Siemens, Munich, Germany). Durante a execução ultrassonográfica do baço avaliou-se, subjetivamente, a ecotextura (homogênea ou heterogênea), ecogenicidade (comparada ao córtex renal), tamanho (aumentado, diminuído ou normal) e contornos (triangular ou normal).

Elastografia ARFI

Para a elastografia ARFI esplênica nos cães, foi utilizado transdutor linear 9,0MHz (Feliciano et al. 2014) com softarwe para caracterização qualitativa e quantitativa usando o método ARFI (Virtual Touch Tissue Quantification). Imediatamente após a ultrassonografia modo B, executou-se a elastografia qualitativa da cabeça, corpo e cauda do baço, as quais formaram imagens em tons de cinza. As imagens foram avaliadas quanto à presença de deformidades, áreas claras (indicativo de um tecido mais elástico, ou seja, menos rígido e mais deformável) e áreas escuras (mais rígida mais dura e não deformável). A avaliação elastográfica quantitativa envolveu a determinação da velocidade de cisalhamento, uma função apropriada no sistema foi ativada e o calípter colocado no interior do parênquima esplênico. Realizaram-se seis medições em cada porção do órgão (cabeça, corpo e cauda), com uma profundidade variando de 0,5 a 2,0 cm e com isso os valores obtidos foram usados para calcular as velocidades de cisalhamento médio (Figura 1). O tamanho do calípter foi ajustado em relação às porções esplênicas (Figura 2).

As imagens ultrassonográficas modo B, do baço contendo a sua maior área de secção transversal, foram salvas (*.jpeg). As análises das imagens do parênquima esplênico, no computador, foram realizadas utilizando um programa comercial (Image ProPlus®, Media Cybernetics Inc., San Diego, CA, USA). Um medidor poligonal foi utilizado para calcular os valores numéricos de pixel médios (Fig 3).



Figura 1: Imagem ultrassonográfica de um baço canino, submetido à avaliação Elastográfica ARFI quantitativa da porção caudal (cauda).

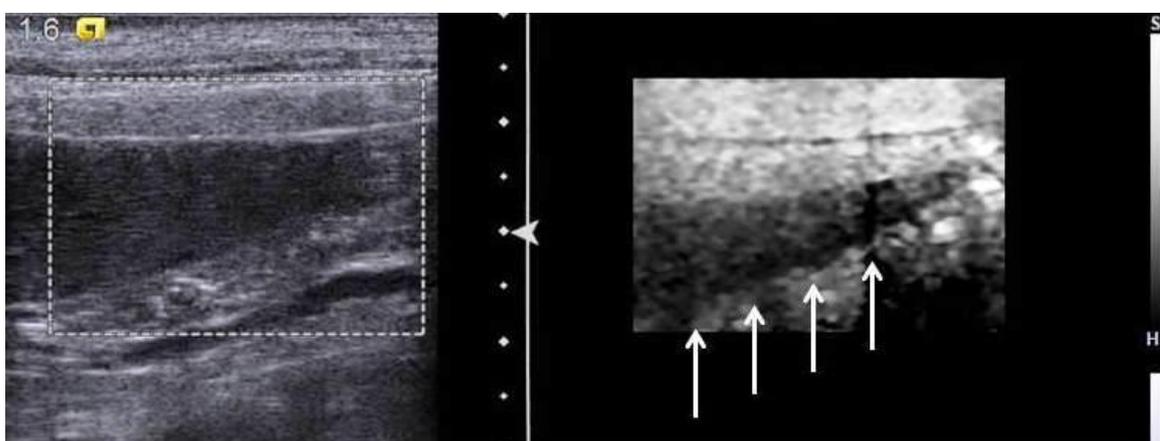


Figura 2: Imagem ultrassonográfica de um baço canino, submetido à avaliação Elastográfica ARFI qualitativa da porção caudal (cauda) (A) e uma imagem ultrassonográfica modo B da porção esplênica caudal (B); Análise elastográfica do baço (setas).

As análises estatísticas foram realizadas com o programa PROC MEANS-SAS™ (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA) e GraphPad Prisma 4 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA). Foram analisados os parâmetros de normalidade da variância de homogeneidade pelo teste Shapiro, já as análises residuais foram avaliadas pelo teste F. O nível de significância foi estabelecido em 95%, para todos os testes realizados. As médias da velocidade de cisalhamento (quantitativa) e as variáveis de ecotextura, das diferentes porções esplênicas, foram avaliadas por uma análise de variância (ANOVA). As correlações entre as velocidades de cisalhamento

médias (média calculada para todo o baço) e as características quantitativas ecotextura do baço foram avaliadas por regressão linear simples. Todos os dados não paramétricos (ecotextura, ecogenicidade, tamanho, contornos e aparência, bem como a deformidades nas imagens em tons de cinza, na ultrassonografia esplênica) foram avaliados em cada animal.

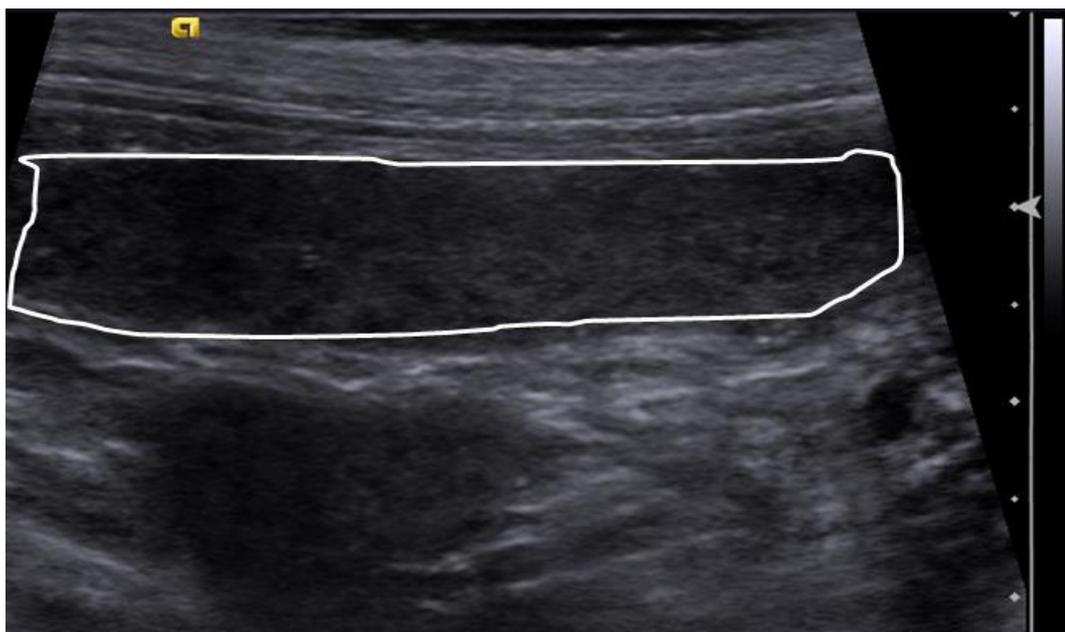


Figura 3: Diagrama ilustrando a colocação do medidor poligonal em baço canino, usado para determinar os atributos quantitativos da ultrassonografia modo B, analisados pelo programa ImageProPlus®.

Resultados

Todos os baços examinados pelo exame de ultrassonografia modo B apresentaram ecotextura homogênea, tamanhos normais e contornos finos e regulares. Neste estudo, não houve alterações no parênquima esplênico (isto é hiperecoica em relação ao córtex renal). A elastografia qualitativa e quantitativa da cabeça, corpo e cauda do baço, foram realizadas sem qualquer dificuldade. Com base na elastografia qualitativa, a avaliação do parênquima esplênico não se apresentou deformável, demonstrando imagem homogênea escura (Figura 1). Utilizando a elastografia ARFI quantitativa, os valores médios da velocidade de cisalhamento do baço foram de 2,32 m/s para cabeça; 2,16 m/s para corpo e 2,25 m/s para cauda (Tabela 1; $P > 0,05$). Os valores da velocidade média de

cisalhamento não variaram ($P > 0,05$) entre os animais alocados dos três diferentes grupos de idade.

Com relação a ultrassonografia quantitativa do baço e suas características de ecotextura, não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre os cães distribuídos nos diferentes grupos (Tabela 2); a diferença mínima nos valores de pixel entre os três grupos de cães não foi significativa ($P = 0,08$). Não houve correlação significativa entre a velocidade média de cisalhamento e os parâmetros de ecotextura, estudados ($P > 0,05$; Tabela 3).

Tabela 1. Valores médios da velocidade de cisalhamento (\pm desvio padrão) do baço canino (cabeça, corpo e cauda) com intervalos de confiança 95% (IC 95%). Com base na elastografia ARFI quantitativa.

Variáveis	Região de cauda	Região de corpo	Região de cabeça	Valor P
Grupo 1	2,31 \pm 0,33	2,09 \pm 0,32	2,38 \pm 0,58	0,2383
(IC 95%)	2,10 – 2,53	1,88 - 2,30	1,99 - 2,77	
Grupo 2	2,32 \pm 0,56	2,25 \pm 0,63	2,34 \pm 0,56	0,9208
(IC 95%)	1,98 – 2,67	1,86 - 2,63	1,99 - 2,68	
Grupo 3	1,98 \pm 0,27	2,10 \pm 0,27	2,19 \pm 0,36	0,5065
(IC 95%)	1,69 - 2,27	1,81 - 2,38	1,8 - 2,57	
Total (n = 33)	2,25 \pm 0,44	2,16 \pm 0,47	2,32 \pm 0,52	0,4026
(IC 95%)	2,09 - 2,42	1,98 - 2,33	2,13 - 2,52	

Grupo 1, animais jovens – 3 meses a 1 ano de idade; Grupo 2, adultos – 1 a 7 anos de idade; Grupo 3, animais velhos – mais de 7 anos de idade.

Tabela 2. Os valores médios (\pm desvio padrão) dos parâmetros ecotextura esplênico, determinados por meio da análise software Imagem ProPlus®.

Variáveis	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Valor P
NPVs	38,17 \pm 12,28	32,18 \pm 15,16	30,95 \pm 9,02	0,4643
MaxPV	171,8 \pm 50,86	218,5 \pm 61,69	190,3 \pm 62,43	0,1593
MinPV	2,38 \pm 0,58	2,34 \pm 0,56	2,19 \pm 0,36	0,0808
PSD	19,50 \pm 10,40	28,93 \pm 11,18	27,89 \pm 13,73	0,19

Valores numéricos de pixels (VPLs), valor máximo de pixel (MaxPV), valor mínimo pixel (MinPV), desvio padrão dos valores médios de pixel (heterogeneidade de pixel - PSD). Grupo 1, animais jovens - 3 meses a 1 ano de idade; Grupo 2, adultos - 1 a 7 anos de idade; Grupo 3, animais velhos, mais de 7 anos de idade.

Tabela 3. Valores de R (coeficiente de correlação) e P nas correlações entre a velocidade de cisalhamento e variáveis ecotextura quantitativas, do baço canino.

Paramêtros	R	Valor P
MSV\timesNPVs	- 0,0930	0,63
MSV\timesMaxPV	0,09940	0,61
MSV\timesMinPV	0,241	0,21
MSV\timesPSD	0,279	0,14

MSV, média das velocidades de cisalhamento; NPVs, valores numéricos de pixels; MaxPV, valor máximo de pixels; MinPV, valor mínimo de pixel; desvio padrão dos valores médios de pixel (heterogeneidade - PSD).

Discussão

A elastografia esplênica em caninos, realizada nesse estudo foi executada sem qualquer dificuldade. Em contraste com estudo anterior realizado por Holdsworth et al. (2014), especificamente para a aplicação da elastografia esplênica em cães, o presente trabalho fornece valores de referência para parâmetros elastográficos de baço de caninos saudáveis. Para melhor conhecimento dos autores, este é o primeiro relato das características elastográficas das várias regiões anatômicas do parênquima esplênico em cães clinicamente saudáveis (com base em uma ampla gama de testes clínicos, incluindo perfil bioquímico sérico) de diferentes idades. Adicionalmente, os resultados de imagem, esplênica, ARFI foram comparados com as obtidas usando a avaliação ultrassonográfica modo B do baço canino, a qual utiliza uma escala de cinzas.

As variações no tamanho e as características funcionais do baço entre cães jovens e velhos foram as principais razões para incluir os três grupos etários de animais no presente estudo. Os animais jovens tendem a ter baços maiores do que os indivíduos mais velhos, provavelmente, devido à diminuição da reserva hematopoéticas em cães mais velhos (Grandmaison et al. 2001).

A ultrassonografia modo B é a modalidade de imagem mais utilizada para avaliação esplênica em cães, porque é altamente eficaz na detecção de lesões macroscópicas no parênquima esplênico, e para avaliar o tamanho e localização do órgão (ou seja, detectar esplenomegalia ou massas esplênicas) (Kisseberth & McEntee 2008, Bandinelli et al. 2011). Contudo, esta técnica não é suficientemente sensível para identificar alterações patológicas difusas, ou específica para diferenciar alterações patologias malignas e benignas (Vescoci et al. 2009, Garcia et al. 2012). Até o momento, o diagnóstico definitivo de alterações esplênicas só poderia ser obtido por meio da análise histopatológica das lesões (Rodaski & Piekarz 2009). Os parâmetros elastográficos qualitativos e quantitativos descritos neste estudo constituem valores de referência, que podem ser utilizados em estudos subsequentes, com base na aplicabilidade da técnica de imagem ARFI na detecção de uma grande variedade de lesões esplênicas em cães.

As alterações na velocidade de cisalhamento do tecido esplênico demonstraram ser de grande utilidade na detecção e diagnóstico de doenças crônicas (cirrose hepática), hipertensão portal (Bota et al. 2010) e em certas alterações vasculares (varizes esofágicas), em humanos (Ye et al. 2012). No entanto, não há relatos sobre a aplicação clínica da elastografia ARFI na detecção e diagnóstico de distúrbios esplênicos caninos. Os únicos resultados preliminares obtidos até o momento em cães envolveram a avaliação de neoplasias mamárias, e utilizou o método ARFI (neoplasias mamárias rígidas e não deformáveis e velocidades de cisalhamento elevadas são indicativos de malignidade; Feliciano et al 2014). Os novos dados obtidos neste estudo podem, portanto, abrir o caminho para um uso mais amplo de técnicas de imagem não-invasivas para a detecção de anomalias esplênicas, na prática veterinária.

Neste estudo, o parênquima do baço exibiu, de forma consistente, como um tecido rígido e homogêneo, não deformável, o que sugere que a elastografia

qualitativa pode potencialmente ser realizada para localizar áreas intraparenquimal alteradas (duro / macio ou deformável / não deformável). Esta avaliação específica pode ajudar a detectar alterações histopatológicas difusas e focais no baço canino. Em geral, os parâmetros avaliados pela ultrassonografia modo B (ecogenicidade e alterações ecotexturais) nos órgãos e tecidos internos, normalmente não estão associados com a malignidade da lesão ultrassonográfica observada (Garcia et al. 2012). Neste estudo, foi demonstrado que as variáveis ultrassonográficas quantitativas, obtidos com a análise computadorizada de ultrassonografia digital não foram correlacionados com os parâmetros quantitativos da elastografia os baços canino. Entretanto, a ausência das correlações quantitativas neste estudo não exclui a existência de tais relações em animais com doença esplênica, mais estudos são necessários para esclarecer este assunto. Uma vez que o aumento da rigidez do tecido está diretamente relacionado a malignidade da lesão, foi sugerido que um aumento da heterogeneidade difusa do tecido e a ocorrência de áreas com uma maior rigidez/ aumento da velocidade de cisalhamento (em comparação com o tecido saudável) podem ser indicativos da presença de uma neoplasia mamária (Tozaki et al. 2011, Bai et al. 2012, Feliciano et al. 2014). Por conseguinte, é coerente pensar que qualquer alteração da rigidez tecidual, observadas durante o decorrer das doenças esplênica em cães, podem ser efetivamente acompanhadas com a técnica de imagem ARFI, aumentando a precisão da técnica ultrassonográfica na detecção de vários distúrbios esplênicos.

Os valores das velocidades de cisalhamento médio do baço canino, neste estudo, não variaram entre as diferentes porções do órgão e foram semelhantes aos registrados em humanos saudáveis (2,44 m/s para hilo; 2,40 m/s para região de polo; e $2,04 \pm 0,28$ m/s para todo parênquima esplênico; Bota et al. 2010, Gallotti et al. 2010) e aos valores máximos para essa variável em cães adultos (variação interquartil de 1,59 a 2,4 m/s com 0 a 2 cm; e 1,45 a 1,94 m/s com 2 a 4 cm de profundidade; Holdsworth et al. 2014). É, no entanto, importante notar que nos cães do presente estudo as medições das velocidades de cisalhamento foram feitas a partir de três regiões diferentes do baço e com animais de diferentes idades, com as observações foram restritas a profundidades inferiores a 0,5 a 2 cm.

Em estudo anterior, Holdsworth et al. (2014) observaram a influência de algumas condições sobre a velocidade de cisalhamento esplênica em cães; houve um aumento de 0,021 m/s para cada aumento de 1 kg no peso corporal e uma queda por 0,197 m/s para cada aumento de um centímetro de profundidade. Além disso, os valores da velocidade da onda de cisalhamento esplênica em machos foram, em média, 0,529 m/s, mais baixa em comparação com as fêmeas. Para minimizar os possíveis efeitos de confusão de sexo e conformação corporal (peso, volume abdominal e profundidade) para a elastografia esplênica, foram utilizados apenas machos mestiços, com pouca variação de peso e tamanho. Nos estudos subsequentes, contudo, todos os fatores que influenciam, como idade do animal, região esplênica/segmento e profundidade de exploração deverá ser considerado, como certas lesões esplênicas focal pode ser maior do que 2 cm de tamanho e/ou pode estar localizada abaixo a gama de varredura de 2 cm. Como observado por Holdsworth et al. (2014) em seu estudo, é necessário realizar um estudo com um maior número de animais e avaliar cães de diferentes raças e sexo, afim de analisar as interações desses fatores sobre as características elastográficas e ecotextura do baço canino.

Deve também ser mencionado que os valores quantitativos obtidos por meio da elastografia ARFI do baço em cães saudáveis são valores de referência importantes que podem ser utilizados em estudos de anormalidades esplênicas focais e, podem potencialmente contribuir para a detecção de doenças hepáticas crônicas e alterações circulatórias em cães e outros animais, da mesma maneira como são utilizados em seres humanos (velocidades de cisalhamento esplênica de $3,65 \pm 0,32$ m/s em pacientes humanos com hipertensão portal (Gao et al 2012); $3,28 \pm 0,45$ m/s em seres humanos com histórico de hemorragia por varizes e $3,19 \pm 0,55$ m/s em seres humanos com varizes de esôfago (Bota et al. 2010)).

Em conclusão, este estudo fornece novas informações sobre os parâmetros elastográficos esplênicos em cães clinicamente saudáveis e, fornece valores quantitativos para ecogenicidade do tecido, além de resultados qualitativos e quantitativos da ARFI elastografia, e uma avaliação das diferentes regiões esplênicas em caninos de várias idades. Em particular, a elastografia ARFI quantitativa e qualitativa em baços caninos pode ser facilmente realizada e são

capazes de fornecer dados adicionais, valiosos, para a avaliação e diagnóstico de alterações esplênicas, normalmente realizada em medicina veterinária com o uso da ultrassonografia modo B.

REFERENCIAS

- Bai M., Du L., Gu J. *et al.* (2012) Virtual touch tissue quantification using acoustic radiation force impulse technology: initial clinical experience with solid breast masses. *Journal of Ultrasound in Medicine* 31, 289-294
- Bandinelli M.B., Pavarini S.P., Oliveira E.C. *et al.* (2011) Estudo retrospectivo de lesões em baços de cães esplenectomizados: 179 casos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31, 8, 697-701
- Bota, S., Sporea, I., Sirli, R. *et al.* (2010) Spleen assessment by acoustic radiation force impulse elastography (ARFI) for prediction of liver cirrhosis and portal hypertension. *Medical Ultrasonography Journal* 12, 213-217
- Comstock, C. (2011) Ultrasound elastography of breast lesions. *Ultrasound Clinics* 6, 407-415
- Dudea, S. M., Giurgiu, C. R., Dumitriu, D. *et al.* (2011) Value of ultrasound elastography in the diagnosis and management of prostate carcinoma. *Medical Ultrasonography* 13, 45-53
- Feliciano, M. A. R., Maronezi, M. C., Pavan, L. *et al.* (2014) ARFI elastography as complementary diagnostic method of mammary neoplasm in female dogs – preliminary results *Journal of Small Animal Practice* 55, 504-508
- Fry, M. M. & McGavin, M. D. (2007) Bone marrow, blood cells, and lymphatic system In: *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4th ed. Eds M. D. McGavin and J. F. Zachary. Mosby Elsevier, St Louis, MO, USA. pp 743-832
- Gallotti, A., D'Onofrio, M. & Pozzi Mucelli, R. (2010) Acoustic radiation force impulse (ARFI) technique in ultrasound with virtual touch tissue quantification of the upper abdomen. *La Radiologia Medica* 115, 889-897
- Gao, J., Ran, H. T., Ye, X. P. *et al.* (2012) The stiffness of the liver and spleen on ARFI Imaging pre and post TIPS placement: a preliminary observation *Clinical Imaging* 36, 135-141

- Garcia D.A.A., Froes T.R. & Guérios S.D. (2012) Preoperative abdominal ultrasonography in dogs and cats with suspected abdominal tumors. *Ciência Rural* 42, 105-111
- Goddi A., Bonardi M. & Alessi S. (2012) Breast elastography: a literature review *Journal of Ultrasound*,15, 192-198
- Grandmaison, G., Clarirand, I. & Durigon, M. (2001) Organ weight in 684 adult autopsies: new tables for a caucasoid population. *Forensic Science International* 9, 149-154
- Holdsworth, A., Bradley, K., Birch, S. et al. (2014) Elastography of the normal canine liver, spleen and kidneys. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 55, 620-627
- Kisseberth, W. C. & McEntee, M. C. (2008) Doenças do baço In: Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais 3rd edn. Eds S. J. Bichard and R. G. Sherding. Roca, São Paulo, Brazil pp 277-287
- Morris, J. & Dobson, J. (2007) Tumores variados. *Oncologia em Pequenos Animais* Roca São Paulo, Brazil. pp 272-278
- Rodaski, S. & Piekarz, C. H. (2009) Diagnóstico e estadiamento clínico In: *Oncologia em Cães e Gatos* 11th edn. Eds C. R. Daleck, A. B. De Nardi and S. Rodaski. Roca, São Paulo, Brazil pp 52-73.
- Se oane, M. P. R. (2010) Avaliação da ocorrência das alterações ultrassonográficas na cavidade abdominal, detectadas em cães idosos clinicamente saudáveis atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal do Paraná. Master Science dissertation. Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil. p 113
- Tozaki, M., Isobe, S. & Fukuma, E. (2011) Preliminary study of ultrasonographic tissue quantification of the breast using the acoustic radiation force impulse (ARFI) technology *European Journal of Radiology* 80, 182-187
- Vescovi, L. A., Monteiro, J. N. M., Santos, W. G. et al. (2009) Ultrassonografia quantitativa do baço de gatos normais. *Veterinária em Foco* 7, 4-10
- Ye, X. P., Ran, H. T., Cheng, J. et al. (2012) Liver and spleen stiffness measured by acoustic radiation force impulse elastography for noninvasive assessment of liver fibrosis and esophageal varices in patients with chronic hepatitis B. *Journal of Ultrasound in Medicine* 31, 1245-1253

CAPÍTULO 3 – Ultrassonografia por contraste com microbolhas e Doppler na avaliação do baço de cães com erliquiose subclínica

Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.67, n.6, p.1528-1532, 2015

Spleen evaluation using contrast enhanced ultrasonography and Doppler in dogs with subclinical ehrlichiosis

[Ultrassonografia por contraste com microbolhas e Doppler na avaliação do baço de cães com erliquiose subclínica]

M.C. Maronezi¹, M.A.R. Feliciano^{1*}, L.Z. Crivellenti^{1,2}, S. Borin-Crivellenti^{1,2}, P.E.S. Silva¹,
C. Zampolo¹, L. Pavan¹, B. Gasser¹, A.P.R. Simões¹, G.S. Maciel¹,
J.C. Canola¹, W.R.R. Vicente¹

Resumo: O objetivo deste estudo foi avaliar o parênquima esplênico de cães com erliquiose na fase subclínica, por meio do Doppler e da ultrassonografia por contraste com microbolhas. Dezesete cães naturalmente infectados por *E. canis* na fase subclínica foram selecionados para este estudo. Por meio da ultrassonografia, avaliou-se a ecotextura, a ecogenicidade, o tamanho e os bordos do baço e, pelo Doppler, foram determinados os índices vasculares da artéria esplênica dos cães. Para a avaliação por contraste com microbolhas, foi utilizado SonoVue, na dosagem de 0,1mL por animal, e determinou-se o tempo de entrada e saída, bem como o pico de realce no tecido esplênico. Ao exame modo-B, foram observadas esplenomegalia com presença de bordas arredondadas, ecotextura heterogênea e ecogenicidade mista do baço. Ao Doppler, foram encontrados valores para os índices vasculares da artéria esplênica: velocidade sistólica: $22,59 \pm 8,07$ cm/s; velocidade diastólica: $5,25 \pm 4,66$ cm/s; e índice de resistência: $0,71 \pm 0,14$, valores ainda não descritos em veterinária. Pela ultrassonografia com contraste, observaram-se valores para wash-in de $5,31 \pm 0,7$ s, pico de realce de $18,56 \pm 2,90$ s e wash-out de $94,56 \pm 35,21$ s. A ultrassonografia convencional do baço de cães com erliquiose, associada com a utilização do método Doppler e a ultrassonografia contrastada, é uma importante ferramenta na triagem diagnóstica e pode auxiliar a monitoração e a evolução de animais na fase subclínica.

Palavras chave: canino, erliquiose, ultrassom.

Introdução

A erliquiose canina, é uma afecção causada por uma bactéria intracelular obrigatória gram-negativa (Davoust et al., 2014; Mylonakis et al., 2014), é um importante agente infeccioso, pois afeta cães domésticos em todo o mundo, sendo mais prevalente em regiões tropicais (Trapp et al., 2006). Esta doença pode ocorrer em três fases: aguda, crônica e subclínica. A fase mais difícil de diagnosticar essa afecção é na fase subclínica, pois os cães são assintomáticos (Davoust et al., 2014).

O baço é um dos maiores órgãos reticuloendoteliais do organismo humano e animal, sendo esse órgão um dos principais locais para o desenvolvimento de tumores primários, metastáticos e afecções do sistema hematopoiético (Morris & Dobson, 2007). Diagnosticar alterações esplênicas em cães é de grande valia, pois este órgão desenvolve funções, imunes, hematopoiéticas, circulatórias e linfáticas (Fry & McGavin, 2007). A ultrassonografia é um método de imagem importante na avaliação de anormalidades esplênicas, como as esplenomegalias e alterações no parênquima de ecogenicidade e ecotextura (Couto, 1992). Nesse contexto, a ultrassonografia se torna um método de diagnóstico complementar, essencial nos pacientes com erliquiose, especialmente na fase subclínica.

Outras técnicas que podem melhorar a avaliação do baço é a ultrassonografia Doppler e a ultrassonografia de contraste. A técnica Doppler associada a ultrassonografia modo B, fornece informações, em tempo real, da arquitetura vascular e seus aspectos hemodinâmicos (Carvalho et al., 2008). Já, a ultrassonografia contrastada pode aumentar o sinal Doppler e ajudar a constatar fluxos dificilmente detectáveis pelos métodos convencionais (Nogueira et al., 2002). A maioria dos agentes de contraste ultrassonográficos, constitui um importante agente sanguíneo, o que permite melhor visualização e avaliação do parênquima esplênico, especialmente no “período vascular” (Lim et al., 2004).

Considerando a importância de examinar um tecido esplênico em animais afetados por *E. canis* e a utilização de técnicas de imagem inovadoras. Este estudo tem como objetivo fornecer resultados relevantes no diagnóstico da erliquiose canina, baseado na ultrassonografia de contraste e Doppler, ainda não descritos na veterinária, especialmente na fase subclínica da doença.

Material e Métodos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Veterinária da UNESP -Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil (11852/14). Dezesete cães de diferentes raças, idade e peso foram selecionados para este estudo, seguidos de exame físico, histórico clínico e ausência de sinais clínicos. Para a seleção dos animais, foram admitidos cães pertencentes a avaliação de rotina e animais que compareceram ao hospital para realização de vacinais anuais. Realizou-se hemograma completo, perfil bioquímico, urinálise e relação proteína/creatinina na urina (UPC), nos animais selecionados, os quais apresentaram mínimas alterações. Todos os animais escolhidos apresentaram sorologia positiva para erliquiose, pela técnica do PCR.

Efetou-se uma tricotomia ampla do abdômen desses animais, com o intuito de permitir a ultrassonografia, antes do exame o gel foi aplicado sobre o abdômen do animal, não sendo necessária a sedação.

A ultrassonografia foi executada por um único avaliador, com experiência. Para a ultrassonografia Modo-B utilizou-se um transdutor linear de 9,0 MHz com o aparelho ACUSON S2000/SIEMENS (Siemens, Munich, Germany). Durante a execução ultrassonográfica do baço avaliou-se, a ecotextura (homogênea ou heterogênea), ecogenicidade (hipoecoica, hiperecoica ou mista), tamanho (aumentado, diminuído ou normal) e contornos (arredondados ou finos).

O Doppler pulsado foi aplicado para avaliação da artéria esplênica nos cães, a fim de avaliar o pico de velocidade sistólica (PSV), velocidade diastólica final (EDV) e índice de resistência ($RI = [PSV - EDV] / PSV$), com uso de uma função específica no aparelho ultrassonográfico (Feliciano et al., 2013). Por meio da técnica Doppler, determinou-se o volume vascular e índices vasculares, usando método de insonação uniforme, de acordo com Feliciano et al. (2012). Para aferir o fluxo espectral, foi colocado um gate de 2 a 3 milímetros (equivalente a 2/3 do diâmetro do vaso) na região central do vaso, sendo os índices vasculares obtidos automaticamente, pelo software de ultrassom, para cada forma de onda. Obteve-se um número de três ondas para cada avaliação, com uma imagem sem artefatos e ângulo de insonação ($< 60^\circ$) ajustado.

Para avaliação da ultrassonografia de contraste por microbolha, o contraste utilizado foi o SonoVue® (hexafluoreto de enxofre) (Bracco Suisse SA, Plan-les-Ouates, Suisse) na dosagem de 0,1 ml por animal, por meio de cateter venoso mantido em veia cefálica, seguida da administração de cinco ml de solução salina (soro fisiológico 0,9%). Com a associação da técnica ultrassonográfica contrastada, foram avaliadas as características das imagens em modo B e Doppler, verificando-se as características teciduais e da vascularização do baço nos animais. Ainda, foram determinadas as fases de entrada (*wash-in*), saída (*wash-out*) e pico de realce do contraste ultrassonográfico nos tecidos bem como seus tempos de duração (Takeda et al., 2012).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os índices vasculares de entrada, pico de realce e saída do contraste foram expressos em médias e desvio padrão. Os dados não paramétricos (ecotextura, ecogenicidade, tamanho e contornos), foram avaliados em análises descritivas.

Resultados e Discussão

No presente estudo, todos os animais examinados pelo exame de ultrassonografia modo B, apresentaram alterações esplênicas, considerando como achados a esplenomegalia com presença de contornos arredondados, ecogenicidade mista (hiperecoica com áreas hipoecoicas) e ecotextura heterogênea. Disfunções de múltiplos órgãos são comuns em casos clínicos de erliquiose canina como o envolvimento fígado e baço (Ganguly e Mukhopadhyay 2008). Assim como verificado no presente estudo, Sarma et al. (2014) observou esplenomegalia e ecogenicidade mista como alteração esplênica em animais positivos para a doença do carrapato. Adicionalmente estas alterações podem resultar da hiperplasia linfóide reativa e hematopoiese extramedular concorrente (Engvall et al., 2000) devido à multiplicação de organismo circulante dentro das células mononucleares e tecidos fagocíticas mononucleares do baço (Hildebrandt et al. 1963), mesmo em fase subclínica.

A ultrassonografia modo B e a ultrassonografia contrastada foram realizadas sem qualquer dificuldade. Entretanto, para a execução da ultrassonografia Doppler da artéria esplênica, verificou-se certa dificuldade, devido aos movimentos

respiratórios dos pacientes, o que impediam a determinação dos traçados, com isso aumentando o tempo do exame.

Informações sobre a técnica de Doppler é limitado para a caracterização da vascularização esplênica utilizando o Doppler pulsado (Albemaz et al, 2007; Santarém et al, 2008). Os valores das médias de índices vasculares, obtidos por meios da técnica Doppler, da artéria esplênica foram: PSV: $22,59 \pm 8,07$ cm/s; EDV: $5,25 \pm 4,66$ cm/s; e RI: $0,71 \pm 0,14$. Então, estes índices vasculares da artéria esplênica parecem ser importantes em animais afetados por hemoparasitas, e também devem ser úteis para a monitorização terapêutica em animais doentes sem sinais clínicos da doença.

Com relação à ultrassonografia de contraste por microbolha no baço, os valores médios obtidos do tempo de contraste $5,31 \pm 0,7$ s para entrada (wash-in); $18,56 \pm 2,90$ s pico de realce (peak enhancement); e $94,56 \pm 35,21$ s para saída (wash-out) (Figura 1), que foram menores do que os observados na literatura. No estudo realizado por Ohlerth et al. (2007) O tempo médio para a entrada do contraste no baço é de 13,2 segundos em cães saudáveis e de 12,0 segundos em humanos (Catalano et al., 2004). Aproximadamente 50 segundos após a injeção de SonoVue o parênquima esplênico torna-se homogêneo (pico de realce) e o contraste permanece por até 5 a 7 minutos no parênquima esplênico, em humanos (Catalano et al., 2004) e $29,8 \pm 11,6$ segundos para pico de realce em baço de cães saudáveis (Ohlerth et al., 2007).

As alterações esplênicas verificadas neste estudo, por meio da ultrassonografia convencional, Doppler e ultrassonografia de contraste em cães com erliquiose subclínica, pode ser explicado pela presença de vasculite e esplenite descrita em pacientes afetados pela doença (Albernaz et al., 2007; Santarém et al., 2008). Esta alteração justifica-se pelo aumento da atividade esplênica relacionada com a inflamação do parênquima e a vasculite. Essas alterações são capazes de modificar a característica do tecido esplênico e vascularização, o que reflete nas mudanças do parênquima como ecotextura, ecogenicidade e aumento do fluxo sanguíneo, mostrando que a associação da ultrassonografia modo B, Doppler e ultrassonografia contrastada podem ser úteis para o diagnóstico, e também para acompanhamento terapêutico da erliquiose em fase subclínica.

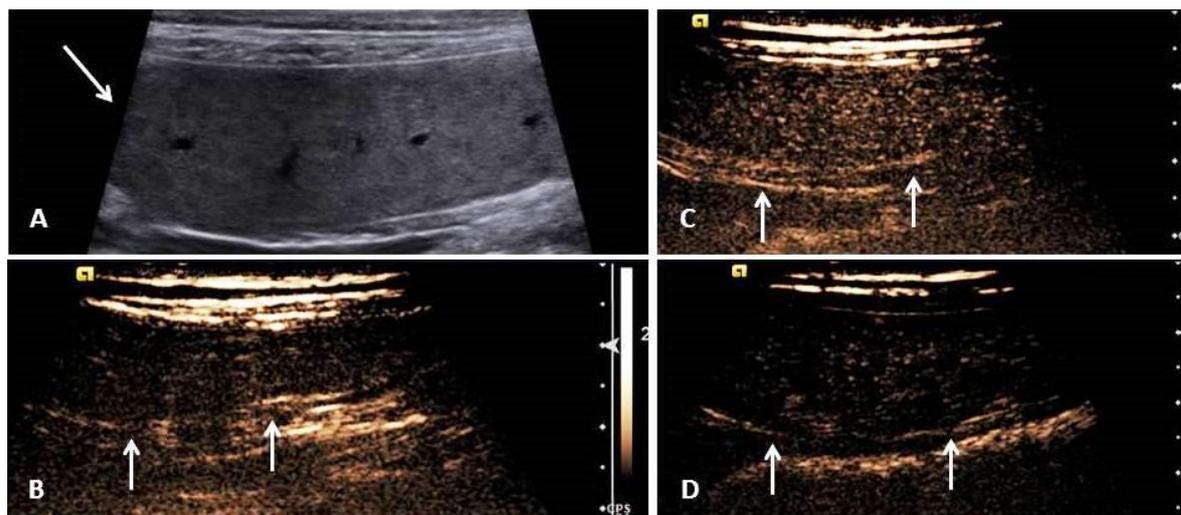


Figure 1: Imagem ultrassonográfica de um cão com erliquiose: (A) Imagem da ultrassonografia modo B do parênquima esplênico (setas) com ecogenicidade mista e ecotextura heterogênea; Imagem da ultrassonografia contrastada nas fases de wash-in (B), pico de realce (C), wash-out (D), do parênquima esplênico (setas).

Conclusão

A ultrassonografia convencional do baço de cães com erliquiose associadas à avaliação hemodinâmica por meio do Doppler e ultrassonografia com contraste são importantes ferramentas para teste de diagnóstico e ajuda a monitorar a evolução clínica de pacientes na fase subclínica da doença.

Referências

ASHKAR, A.A.; BLACK, G.P.; WEI, Q.; *et al.* Assessment of requirements for IL-15 and IFN regulatory factors in uterine NK cell differentiation and function during pregnancy. *J. Immunol.*, v.171, p.2937-2944, 2003.

CARVALHO, C.F.; CHAMMAS, M.C.; COGLIATI, B. *et al.* Elastography and contrast-enhanced ultrasonography improves early detection of hepatocellular carcinoma in experimental model of NASH. In: 47 th Annual meeting of the European Association for the study of the liver - The International Liver Congress 2012, 2012, Barcelona. *J. Hepatol.*, 2012.

CATALANO, O.; CUSATI, B.; NUNZIATA, A.; SIANI, A. Real time, contrast specific sonography imaging of acute splenic disorders: a pictorial review. *Emergency Radiol.*, v.11, p.15-21, 2004.

- COUTO C.G. Moléstias dos linfonodos e baço. In: ETTINGER S.F. and FELDMAN E.C. (Eds). Tratado de Medicina Interna Veterinária: Moléstias do Cão e do Gato 2.ed. São Paulo: MANOLE, 1992. p.2328-2348.
- DAVOUST, B.; PARZY, D.; JEAN-PAUL, D. *et al.* Usefulness of a rapid immunomigration test for the detection of canine monocytic ehrlichiosis in Africa. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v.37, p.31– 37, 2014.
- EGENVALL, A.; LILLIEHOOK, I.; BJOERSDORFF, A.; *et al.* Detection of granulocytic Ehrlichia species DNA by PCR in persistently infected dogs. *Vet. Rec.*, v.146, p.186-190, 2000.
- FELICIANO, M.A.R.; NEPOMUCENO, A.C.; CRIVELARO, R.M.; *et al.* Foetal echoencephalography and Doppler ultrasonography of the middle cerebral artery in canine fetuses. *JSAP*, v.54, p.149-152, 2013.
- FRY, M.M.; MCGAVIN, M.D. Bone marrow, blood cells and lymphatic system. In: MCGAVIN, M.D. (Ed.). Pathologic Basis of Veterinary Disease 4th ed. Mosby, St. Louis: MOSBY, 2007. 801 pp.
- GANGULY, S.; MUKHOPADHAYAY, S.K. Tick-borne ehrlichiosis infection in human beings. *J. Vec. Borne Dis.*, v.45, p.273-280, 2008.
- HILDEBRANDT, A.C.; WILMAR, J.C.; JOHN, H.; RIKER, A.J. Growth of edible chlorophyllous plant tissues in vitro. *Am. J. Bot.*, v.50, p.248-254, 1963.
- LIM, A.; PATEL, N.; ECKERSLEY, R.; *et al.* Evidence for spleen-specific uptake of a microbubble contrast agent: a quantitative study in healthy volunteers. *Radiology*, v.231, p. 785–788, 2004.
- MORRIS, J.; DOBSON, J. Tumores variados. In: _____ Oncologia em Pequenos Animais. São Paulo: ROCA, 2007. p.272-278.
- MYLONAKIS, M.E.; XENOULIS, P.G.; THEODOROU, K. *et al.* Serum canine pancreatic lipase immunoreactivity in experimentally induced and naturally occurring canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*). *Veterinary Microbiology*, v.169, p.198-202, 2014.
- NELSON, R.W.; COUTO, C.G. In: _____ Medicina interna de pequenos animais. 2.ed. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN. 2001.

NOGUEIRA, A.C.; MORCERF, F.; MORAES, A.V.; *et al.* Ultra-sonografia com agentes de contrastes por microbolhas na avaliação da perfusão renal em indivíduos normais. *Revista Brasileira de Ecocardiografia*, v.1, p.74-78, 2014.

OHLERTH, S.; EVA, R.U.E.; VALERIE, P.; *et al.* Contrast harmonic imaging of the normal canine spleen. *Vet. Radiol. Ultrasoun.*, v. 48, p.451–456, 2007.

SANTARÉM, V.A.; JOSÉ, M.D.; LAPOSY, C.B. Alterações bioquímicas em cães citopênicos e não citopênicos com ehrlichiose. *Semina: Cienc. Agri.*, v.29, p.845-852, 2008.

SARMA, K.; MONDAL, D.B.; SARAVANAN, M. Ultrasonographic changes in dogs naturally infected with tick borne intracellular diseases. *Journal of Parasitic Diseases*. 2014.

TAKEDA, C.S.I.; CARVALHO, C.F.; CHAMMAS, M.C. Ultrassonografia contrastada na medicina veterinária – revisão. *Clínica Veterinária*, v.17, p.108-114, 2012.

TRAPP, S.M.; DAGNONE, A.S.; VIDOTTO, O. *et al.* Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population. *Veterinary Parasitology*, v.140, p.223–230, 2006.