

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

**ULTRASSONOGRAFIA MODO B E ELASTOGRAFIA
ARFI PULMONAR E HEPÁTICA FETAL COMO MÉTODO
PREDITIVO PARA A MATURIDADE DOS CONCEPTOS
EM FASE FINAL DE GESTAÇÃO DE CADELAS**

**Ana Paula Rodrigues Simões
Médica Veterinária**

2016

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

**ULTRASSONOGRAFIA MODO B E ELASTOGRAFIA
ARFI PULMONAR E HEPÁTICA FETAL COMO MÉTODO
PREDITIVO PARA A MATURIDADE DOS CONCEPTOS
EM FASE FINAL DE GESTAÇÃO DE CADELAS**

Ana Paula Rodrigues Simões

Orientador: Prof. Dr. Marcus Antonio Rossi Feliciano

Co-orientador: Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente

Co-orientadora: Prof. Dra. Liège Cristina Garcia da Silva

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

Simões, Ana Paula Rodrigues
S593u Ultrassonografia modo B e elastografia ARFI pulmonar e hepática fetal como método preditivo para maturidade dos conceptos em fase final de gestação de cadelas / Ana Paula Rodrigues Simões. -- Jaboticabal, 2016
viii, 59 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Marcus Antônio Rossi Feliciano
Banca examinadora: Leandro Zuccolotto Crivellenti, Eliandra Antônia Pires Buttler
Bibliografia

1. Caninos. 2. Elastografia. 3. Hepático. 4. Maturidade fetal. 5. Pulmonar. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-073:636.7

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ULTRASSONOGRAFIA MODO B E ELASTOGRAFIA ARFI PULMONAR E HEPÁTICA FETAL COMO MÉTODO PREDITIVO PARA A MATURIDADE DOS CONCEPTOS EM FASE FINAL DE GESTAÇÃO DE CADELAS.

AUTORA: ANA PAULA RODRIGUES SIMÕES

ORIENTADOR: MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO

COORIENTADOR: WILTER RICARDO RUSSIANO VICENTE

COORIENTADORA: LIEGE CRISTINA GARCIA DA SILVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MEDICINA VETERINÁRIA, área: REPRODUÇÃO ANIMAL, pela Comissão Examinadora:


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


Prof. Dr. LEANDRO ZUCCOLOTTO CRIVELENTI
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

Ana Paula Rodrigues Simões – Nascida em São Paulo (SP), 01 de dezembro de 1986. Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho/UNESP, Campus de Jaboticabal (2012). Possui Residência em Obstetrícia e Reprodução Animal pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho/UNESP, Campus de Jaboticabal (2014). Durante a residência foi bolsista da FUNDAP. Atualmente, é mestranda do programa de Medicina Veterinária, área de Reprodução Animal, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”/UNESP, Campus de Jaboticabal e bolsista FAPESP, processo número 2014/15117-3. Tem experiência na área de Ultrassonografia e Fisiologia Reprodutiva, atuando em Reprodução e Diagnóstico por Imagem de Animais Domésticos.

“Foi o tempo que dedicaste à tua rosa que a fez tão importante”
(Saint-Exupéry – O pequeno príncipe)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, por ter me atribuído alma e missões, por me possibilitar caminhos e encontros mágicos sendo meu guia e protetor para que adversidades e provações fossem motivos de força e escada para a realização desse sonho.

Ao meu pai, Manuel por ser meu exemplo de determinação, inteligência e caráter, pelo apoio e amor incondicional, por me dar asas e permitir a realização do meu sonho, por nossas conversas que me instruíram a ser uma pessoa determinada em busca dos meus ideais, ensinando que nada acontece por acaso e a busca não é fácil, mas que o impossível não existe. Por ser sempre meu ídolo.

A minha mãe, Maria Izilda, por ser o anjo que Deus me deu de presente, por me mostrar o que é o amor imensurável que eu sinto todos os dias, mesmo a longas distâncias, pelo cuidado, preocupação e proteção, pela sua força, integridade, exemplo, por ser minha fiel ouvinte, por acreditar no meu potencial, ser minha amiga companheira, por ser a base sólida da minha família.

Ao meu irmão, Gustavo, por me ensinar a compreender as diferenças e por me mostrar que irmãos são nossos pais presentes em nós.

Aos meus avôs (*in memoriam*) Geraldo Rodrigues, Guiomar Rodrigues, Manoel Simões da Conceição e Delminda dos Santos Nova, por serem o sublime ponto de partida do amor presente em minha família.

Ao Sérgio, meu namorado, pelo amor, carinho e amizade, por dividir e criar comigo os sonhos e planos nesse nosso aprendizado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano, pela responsabilidade confiada, pelos conselhos, pelo acolhimento e capacidade de ensinar possibilitando o granjeio desse trabalho. Agradeço o incentivo, crescimento profissional e pessoal, oportunidade e compreensão, por ser exemplo de competência, liderança e amor à profissão. Por permitir essa experiência, não poderia ter ORIENTADOR melhor.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente, obrigada pelas oportunidades, conversas, confiança e carinho. Obrigada pelo exemplo, segue meu respeito e admiração.

A minha co-orientadora Prof. Dra. Liège Cristina Garcia da Silva, obrigada pela disponibilidade, por partilhar conhecimentos e conceitos enriquecendo essa produção.

Ao CNPq pela subvenção da bolsa e recurso pesquisa.

A FAPESP processo número 2014/15117-3 pela concessão da bolsa e auxílio pesquisa.

Aos Professores Doutores Eliandra Antonia Pires Buttler e Leandro Crivellenti, pela participação na comissão examinadora, pelas orientações, empenho e suporte na elaboração desse trabalho. Obrigada pela amizade.

A Marjury, minha companheira de mestrado, obrigada por dividir comigo esses dois intensos anos, pelos conhecimentos, descobertas, pelas incansáveis horas dedicadas ao trabalho, pelo ombro amigo, risadas e choros, pela amizade. Por essa eterna parceria dentro e fora do ambiente de trabalho, por ser minha irmã.

A Renatinha, obrigada por ter entrado em minha vida nesse período tão especial, obrigada pelo carinho, conversas, conselhos, pela confiança, pela parceria, por ter se tornado minha irmã.

Aos pós-graduandos Ricardo e Vivian que sem medir esforços me ajudaram para que esse projeto fosse realizado e a Talita e Beatriz por todo auxílio.

Ao Pawel M. Bartlewski, obrigada pela disposição, sapiência, pelos recursos e técnicas oferecidas, por apresentar novos horizontes.

Aos pós-graduandos (as) do “Q.G do Chefinho”, obrigado pelas experiências partilhadas, pelos socorros, disposição e amizade, pelo forte grupo de estudos e família que nos tornamos e que só cresce com o tempo.

Ao Departamento de Reprodução Animal “Família Obstetrícia”, pelo acolhimento e assistência profissional. Sinto-me lisonjeada por fazer parte dessa equipe.

Aos funcionários do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel e do Departamento de Reprodução Animal pela atenção, carinho e ajuda dispensada.

A minha segunda família, que Deus permitiu que eu escolhesse meus amigos, obrigado a eterna família Arueira, lar onde aprendi com diferenças, amadureci, vivi o amor, obrigada pela irmandade e por proporcionarem sempre o mesmo sentido no reencontro. Obrigada por essa fase.

A minha também família Veterinária 07- MPB, obrigado por me mostrarem que por mais que os nossos caminhos sigam rumos diferentes, mudemos nossos sonhos e planos, por mais que o nosso grupo siga incompleto, verdadeiras amizades continuam a crescer, mesmo a longas distâncias. A saudade e recordações ficaram para sempre guardado em meu coração, sou muito grata por tê-los ao meu lado.

Aos canis, proprietários particulares e colegas veterinários que colaboraram com esse experimento.

Aos meus pacientes, obrigada por serem sempre os melhores professores, ensinando através de gestos e olhares, a ter paciência e principalmente, a ter humildade, mostrando o que não estava escrito nos livros, o imprevisível, por serem o maior e melhor motivo que me fez chegar até aqui.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiii
CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais	15
1. Introdução	15
2. Revisão de Literatura	17
2.1 Maturidade Fetal.....	17
2.1.1 Maturidade Pulmonar	17
2.2 Maturidade Hepática	20
2.3 Ultrassonografia Gestacional	20
2.3.1 Elastografia Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI).....	24
3. Referências	26
CAPÍTULO 2 – Características ecotexturais e elastográficas do parênquima pulmonar e hepático de fetos caninos durante a última semana de gestação.....	33
Resumo.....	33
Introdução	34
Material e Métodos.....	36
Resultados	43
Discussão.....	52
Conclusão	55
Referências	56



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



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 11765/14 do trabalho de pesquisa intitulado **"Ultrassonografia pulmonar fetal como método preditivo para a maturidade dos conceptos em fase final da gestação de cadelas"**, 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

ULTRASSONOGRAFIA MODO B E ELASTOGRAFIA ARFI PULMONAR E HEPÁTICA FETAL COMO MÉTODO PREDITIVO PARA A MATURIDADE DOS CONCEPTOS EM FASE FINAL DE GESTAÇÃO DE CADELAS

RESUMO – O objetivo deste estudo foi avaliar a rigidez do parênquima pulmonar e hepático de fetos caninos em fase final da gestação, por meio da elastografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse), determinando padrões qualitativos e quantitativos, com o intuito de prever a maturidade dos conceptos caninos. Foram avaliadas 15 cadelas primíparas e múltiparas, com peso médio de $7,03 \pm 3,64$ kg, idade média de $2,5 \pm 1,21$ anos, de raças variadas. Após a realização de exames prévios e verificada a higiene dos animais, estes foram submetidos aos exames ultrassonográfico convencional e elastografia (método ARFI quantitativo e qualitativo) do tecido pulmonar e hepático, com a utilização do aparelho ultrassonográfico ACUSON S2000/SIEMENS e softwares específicos. Os exames foram realizados diariamente, a cada 12 horas, a partir da oitava semana gestacional até o dia de parição, sendo verificados os achados sonográficos dos pulmões e fígados fetais, valores de ecogenicidade, velocidade de cisalhamento dos parênquimas avaliados (avaliação elastográfica quantitativa) e suas características de rigidez (avaliação elastográfica qualitativa). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e se utilizou nível de significância de 5% para todos os testes realizados. Os animais não apresentaram quaisquer alterações clínicas e obstétricas durante o período gestacional e parto. Os neonatos apresentaram-se saudáveis e normais. A elastografia ARFI foi realizada de forma consistente e sem qualquer dificuldade. A elastografia qualitativa do parênquima pulmonar dos fetos caninos não se apresentou deformável, demonstrando imagem homogênea, de colocação cinza médio a claro e rígido. À avaliação quantitativa, a velocidade média de cisalhamento foi de (IC = $0,84 \pm 0,11$ m/s), sendo que as velocidades foram estatisticamente semelhantes em todos os momentos experimentais ($p = 0,69$). À avaliação qualitativa, o parênquima hepático dos fetos caninos não se apresentou deformável, sendo homogêneo e de coloração cinza médio a escuro e com maior rigidez ao tecido pulmonar, em todos os momentos de coleta. Em relação à avaliação quantitativa, a velocidade média de cisalhamento foi de (IC = $0,98 \pm 0,12$ m/s). Houve um efeito significativo de tempo para o valor médio do número de pixels, e a intensidade de pixel mínima e máxima do tecido pulmonar, estes valores diminuíram significativamente de 96 a 24 horas antes do parto e, subsequentemente, os valores aumentaram no momento do parto ($p = 0,04$). A heterogeneidade de pixels dos pulmões dos fetos não variou significativamente durante a última semana de gestação e não houve diferença significativa ($p = 0,32$).

Palavras-chave: caninos, elastografia, hepático, maturidade fetal, pulmonar

B MODE ULTRASONOGRAPHY AND ARFI ELASTOGRAPHY OF PULMONARY AND HEPATIC FETAL AS PREDICTIVE METHOD FOR MATURITY OF CONCEPTOS IN FINAL PHASE OF BITCHES PREGNANCY

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the stiffness of the lung and hepatic parenchyma of canine fetuses in late pregnancy of bitches, through elastography ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse), determining qualitative and quantitative standards, in order to predict the maturity of canine fetuses. Were evaluated 15 female dogs primiparous and multiparous, with an average weight of 7.03 ± 3.64 kg, mean age 2.5 ± 1.21 years, of various races. After conducting preliminary exams and checked the healthiness of the animals, these were submitted to the conventional ultrasound examinations and elastography (quantitative and qualitative method ARFI) of lung and liver tissue, with the use of the ultrasound equipment ACUSON S2000 / SIEMENS and specific software. The examinations were performed daily, ever 12 hours, from the eighth week of pregnancy until the day of birth, sonographic findings of lung and fetal livers, being checked, echogenicity values, shear rate of the evaluated parenchyma (elastography quantitative assessment) and their rigidity characteristics (elastography qualitative assessment). The experimental lineation was completely randomized and used 5% significance level for all tests. The animals did not present any clinical and obstetric changes during pregnancy and birth. The newborns presented themselves healthy and normal. ARFI elastography was performed consistently and without any difficulty. Qualitative elastography of lung parenchyma of canine fetuses did not appear deformable, demonstrating homogeneous image, medium gray coloration to the light and hard. For quantitative evaluation, the average shear speed was of (CI = 0.84 ± 0.11 m/s), and the velocities were statistically similar in all experimental time ($p = 0.69$). In the qualitative assessment, the liver parenchyma of canine fetuses did not appear deformable, being homogeneous and medium gray to dark and greater rigidity to the lung tissue, in every moment of collection. In the qualitative assessment, the liver parenchyma of canine fetuses did not appear deformable, being homogeneous and medium gray to dark and greater rigidity to the lung tissue, in every moment of collection. For the quantitative evaluation, the average shear speed was (CI= 0.98 ± 0.12 m/s). There was a significant effect of time for the mean values of pixels number, and the minimum and maximum pixel intensity of lung tissue, these values decreased significantly from 96 to 24 hours before birth and subsequently the values increase to the time of birth ($p = 0.04$). The heterogeneity of pixel of the lungs of fetuses did not vary significantly during the last week of gestation and there was no significant difference ($p = 0.32$).

Keywords: canines, elastography, fetal maturity, hepatic, pulmonary

LISTA DE ABREVIATURAS

- – subtração

% – Por centagem

+ – adição

< – Menor que

= – igual

± – Mais ou menos

≥ – Maior ou igual a

® – Marca registrada

° – grau

3D – Tridimensional

ANOVA – Análise de variância

ARFI – Acoustic radiation force impulse

CEUA – Comissão de ética no uso de animais

cm – centímetro

DBP – Diâmetro biparietal

DCF – Diâmetro corpóreo do feto

DP – Desvio padrão

FC – Frequência cardíaca

FR – Frequência respiratória

HAP – Horas antes do parto

IA – Inseminação artificial

IC – índice de confiabilidade

ID – Identificação

JPEG – Joint photographics experts group

Kg – Quilograma

L/E – Lecitina/esfingomielina

M – Amostra

m/s – Metros por segundo

MHz – Mega-hertz

mL – mililitro

MN – monta natural

NPV – Valor numérico médio de pixels

r – coeficiente de correlação linear

Software R® – R Foundation for statistical computing

SRD – Síndrome do desconforto respiratório

SSI – Supersonic shear imaging

VSR – Velocidade de cisalhamento em tempo real

x – multiplicação

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. Introdução

O exame ultrassonográfico tem uma grande utilidade na rotina veterinária de pequenos animais, especificamente no que diz respeito à gestação, onde trouxe importantes avanços no que tange à detecção precoce, com diagnóstico gestacional preciso, assim como monitoração da gestante, avaliação da organogênese fetal, acompanhamento da viabilidade gestacional e detecção de possíveis anormalidades da gestação e fetos.

Em medicina humana, o diagnóstico gestacional e avaliação das estruturas fetais e uterinas ganharam grande ímpeto com o advento de aparelhos modernos e métodos inovadores de exame ultrassonográfico. Em veterinária, verificou-se esta impulsão com a ultrassonografia bidimensional de alta resolução e utilização do modo Doppler para a verificação de índices vasculares do fluxo sanguíneo de corpos lúteos, artérias uterina e umbilical, além da utilização da ultrassonografia tridimensional para avaliação da morfologia fetal.

Ressalta-se entre as novas técnicas de imagem implementadas na medicina, a elastografia, que vem apresentando resultados bastante promissores, fato que propicia a utilização deste método em medicina veterinária, particularmente no cão, considerando sua importância econômica, afetiva e de similaridade científica para o homem.

Técnicas para avaliação das maturidades óssea, pulmonar, renal e cardíaca estão sendo desenvolvidas em obstetrícia veterinária (BARRETO et al., 2012; BARRETO et al., 2011; SILVA et al., 2011), mesmo que restritas à aplicação acadêmica. Nota-se que os testes utilizados na avaliação da maturidade pulmonar fetal em veterinária são novos e ainda limitados. Fato esse que denota grande importância para o desenvolvimento de práticas não invasivas e de fácil execução, verificando-se as características da maturidade dos tecidos fetais, auxiliando na determinação da data mais precisa para a parição e quando necessária à intervenção cirúrgica.

Espera-se que a inclusão de técnicas inovadoras de diagnóstico por imagem em veterinária, como a elastografia, realizadas nesse estudo, possa gerar uma perspectiva impactante e de valor diagnóstico singular, em clínica médica e cirúrgica de pequenos animais e como modelo experimental para medicina, especificamente em obstetrícia veterinária para o presente projeto de pesquisa, por meio do estudo do parênquima pulmonar e hepático de fetos caninos e suas particularidades, facilitando a diferenciação destes durante os momentos das coletas realizadas e determinando com ineditismo essas avaliações.

Hipotizamos que a utilização das técnicas ultrassonográfica e elastográfica permite avaliação acurada e aplicável em obstetrícia veterinária, do parênquima pulmonar e hepático fetal durante a fase final da gestação de cadelas. Neste contexto, objetivamos avaliar o desenvolvimento pulmonar e hepático dos fetos por meio da ultrassonografia convencional e elastografia, predizendo assim a maturidade dos conceptos em fase final da gestação de cadelas.

Especificamente, buscamos avaliar a ecotextura e ecogenicidade, determinar índices de heterogeneidade para ecogenicidade, padronizar a técnica elastográfica qualitativa e quantitativa para avaliação do parênquima pulmonar e hepático fetal canino, determinando os valores de referência para velocidade de cisalhamento desses tecidos.

2. Revisão de Literatura

2.1 Maturidade Fetal

O termo maturidade fetal (*lat maturitate*) é definido como estado de completo desenvolvimento, perfeição e excelência (MICHAELIS, 1998), ou seja, feto maduro é aquele que passou por desenvolvimento tal que já se encontra apto a sobreviver fora do ambiente materno.

Em veterinária, os principais sinais de maturidade observados nos carnívoros domésticos são extrauterinos, como por exemplo, a presença de pelos curtos e densos por todo o corpo do neonato, peso ao redor de 80 a 300 gramas e pálpebras ainda cerradas (TONIOLLO; VICENTE, 2003). Contudo, o diagnóstico intrauterino da maturação fetal é essencial na tentativa de instituir meios para detecção de intercorrências durante a gestação em pequenos animais, estabelecendo terapias pré-natais que aumentem as chances de sobrevivência materno-fetal (BARRETO, 2002). Recentemente, estudos ultrassonográficos específicos de tecidos maternos e fetais foram realizados para avaliar o desenvolvimento e a maturidade dos fetos e predizer o melhor momento para o parto das cadelas, como ecoencefalografia fetal (FELICIANO et al., 2013), ultrassonografia renal (FELICIANO et al., 2014a), avaliação da aceleração e desaceleração da frequência cardíaca de fetos caninos (GIL et al., 2014) e estudo do desenvolvimento intestinal dos conceptos (GIL et al., 2015). Entretanto, não há relatos da aplicação desta técnica para avaliação da maturidade pulmonar e hepática dos conceptos caninos.

2.1.1 Maturidade Pulmonar

O desenvolvimento do aparelho respiratório fetal é um fenômeno complexo e contínuo, que engloba o crescimento e maturação pulmonar. Tal processo inicia-se precocemente durante a gestação e estende-se até a vida adulta do indivíduo e pode ser dividido em três períodos cronológicos: embrionário, fetal e pós-natal (KOPELMAN et al., 1998). Com base no aspecto histológico pulmonar, ocorrem cinco diferentes fases de evolução: embrionária, pseudoglandular, canicular, sacular e alveolar (MIYOSHI; GUINSBURG, 1998).

O sucesso no processo de adaptação imediata à vida extrauterina depende essencialmente da presença de função pulmonar adequada, incluindo

a maturação morfológica, fisiológica e bioquímica do pulmão (CUELLO et al., 1993).

O disparo para o início da respiração dos conceptos ocorre por estímulos táteis, térmicos e de moderada privação de oxigênio pelo mecanismo do parto (VESTWEBER, 1997). No momento do parto ocorre a interrupção do suprimento materno de oxigênio, resultando em hipóxia, induzindo a produção de surfactante pulmonar, enzimas hepáticas, digestivas e proteínas epidérmicas fundamentais para a maturação fetal (APPARÍCIO, 2015). Com a elevação da resistência vascular sistêmica, da pressão arterial e decréscimo da resistência vascular pulmonar, segue-se o aumento do fluxo sanguíneo nos pulmões, que serão preenchidos por ar, levando à dilatação dos vasos sanguíneos pulmonares, permitindo assim a perfusão alveolar e oxigenação tecidual do neonato (CRISSIUMA et al.; 2005; RODRIGUES, 2008). Assim, ao final da gestação é possível inflar os pulmões fetais com ar (VESTWEBER, 1997).

É essencial que haja quantidade adequada de surfactantes, para revestir os espaços aéreos dos pulmões (DÍAZ et al., 2000). O surfactante (lipoproteína tensoativa secretada pela membrana alveolar dentro dos alvéolos) tem fundamental importância por se infiltrar entre as moléculas de água da fase aquosa do filme superficial alveolar e reduzir suas propriedades de coesão, diminuindo a tensão superficial, sendo que desta maneira, estabiliza os alvéolos e garante que eles permaneçam de tamanho uniforme, impedindo-os de colabar ao final da fase expiratória (KOPELMAN et al., 1998).

Essas substâncias são produzidas e estocadas nos pneumócitos tipo II (REBELLO et al., 2002). Acredita-se que a produção de surfactante ocorra nos fetos caninos por volta de 57 a 60 dias de gestação e que a maturação pulmonar ainda perdure durante o período neonatal com aparecimento da fase alveolar de desenvolvimento do sistema respiratório (LÚCIO et al., 2009; SIPRIANI et al., 2009).

Em medicina humana, prematuridade está associada a 75% das mortes de neonatos e está diretamente relacionada com distúrbios respiratórios e complicações infecciosas e neurológicas (RADES et al., 2004). Entre as múltiplas complicações da prematuridade, a Síndrome do Desconforto Respiratório (SRD), relacionada à imaturidade estrutural e inadequada produção de surfactante, constitui a afecção de maior gravidade

(HERMANSEN; LORAH, 2007). Em potros, os distúrbios respiratórios, dentre eles a SRD, são frequentes e responsáveis por 3,6 a 5% da mortalidade neonatal (KOSCH et al., 1984). Em bezerros, os principais achados são dispnéia inspiratória com evidente retração dos dois últimos pares de costelas e agravamento progressivo nas 60 horas seguintes, culminando em óbito (EIGENMANN et al., 1984). Em cães não há relatos desta afecção no período neonatal, possivelmente pela falta de estudos mais específicos e de um diagnóstico preciso da síndrome.

A maturidade fetal pulmonar é avaliada pelo líquido amniótico utilizando amniocentese, em seres humanos. Conforme o pulmão se desenvolve, quantidades significativas de surfactante são eliminadas dos pulmões do feto e se acumulam no líquido amniótico (FIELD; GILBERT, 1997). Os testes de maturidade pulmonar podem ser divididos didaticamente em dois grupos: os testes que dosam a presença do material surfactante no líquido amniótico e aqueles que testam a função surfactante presente nesse líquido (LUZ, 2001). Entre os testes incluem-se a relação lecitina/esfingomielina (L/E), teste de Clements, dosagem da fosfatidilcolina saturada, do fosfatidilglicerol, perfil dos fosfolípidios, dosagem das proteínas específicas do surfactante e contagem dos corpos lamelares. Já os testes da função surfactante baseiam-se na capacidade dessa substância de diminuir a tensão superficial nos líquidos provenientes das vias aéreas (VIEIRA, 2010).

A aplicabilidade de tais testes em veterinária ainda é recente, sendo utilizados essencialmente em pesquisa. O teste de Clements adaptado por Garcia (2008) é utilizado para avaliação de amostras de líquidos fetais na espécie canina e obteve resultados confiáveis, indicativos de maturidade fetal pulmonar em cães (BARRETO et al., 2011). Nos dias que antecedem o parto, observa-se aumento fisiológico nas concentrações plasmáticas de corticosteroides endógenos, importante para o processo final de maturação pulmonar. Ademais, a falta do hormônio é observada em neonatos prematuros (BONANNO; WAPNER, 2009).

A corticoterapia pré-natal é rotineiramente utilizada na medicina humana para induzir a maturação pulmonar, reduzindo significativamente a incidência de mortalidade entre os pré-termos (POLGLASE et al., 2007). Em medicina veterinária, pesquisas relacionadas à influência desta conduta terapêutica para

indução da maturação pulmonar são escassas, porém fundamentais para o emprego dessa terapia.

A melhora da função pulmonar reflexa ao uso pré-natal de glicocorticóides resulta de alterações funcionais como estruturais por diminuição da espessura da parede alveolar, aproximando os vasos da luz alveolar (BONNANO; WAPNER, 2009), maior ramificação das vias aéreas, aumento do número de glândulas e achatamento das células epiteliais, com o consequente aumento de volume do espaço aéreo potencial (KIKKAWA, 1971).

2.2 Maturidade Hepática

O sistema hepático do neonato é imaturo e muitas das funções metabólicas não são completamente desenvolvidas ao nascimento, apesar da diferenciação embriogênica precoce. O fluxo biliar é reduzido quando comparado ao do adulto até os três dias de idade e a estimulação de sua secreção, por meio dos hormônios como secretina e glucagon, não ocorre (GRUNDY, 2006).

A plenitude do desenvolvimento hepático ocorre somente ao redor de cinco meses de idade. A imaturidade hepática no neonato não se resume apenas ao processo de biotransformação dos fármacos, reflete-se também na glicemia. Os neonatos apresentam reservas limitadas de glicogênio e gliconeogênese hepática insuficiente em resposta a estados hipoglicemiantes (PRATS, 2004; SORRIBAS, 2007).

2.3 Ultrassonografia Gestacional

O exame ultrassonográfico é o meio de diagnóstico mais preciso para avaliação da prenhez de cadelas, além de ser totalmente inócuo para a fêmea e fetos. Por meio desta técnica de imagem pode-se confirmar a gestação e avaliar a idade gestacional, as condições de ovários, útero e as estruturas e condições vitais dos fetos (SERRA; GUIMARÃES, 1996).

Existem três tipos de diagnósticos gestacionais ultrassonográficos descritos pela literatura veterinária em caninos. São eles: modo B ou convencional, Doppler e ultrassonografia tridimensional (NEPOMUCENO et al., 2013).

O modo B ou ultrassom em tempo real convencional permite a avaliação do “status” gestacional, do número de fetos, viabilidade fetal, investigação uterina e de estruturas abdominais extrarreprodutivas, sendo essa a mais utilizada (KUSTRITZ, 2005). O exame modo Doppler fornece informações importantes sobre a vascularização materno-fetal, tornando-se método indispensável na avaliação da gestação de cadelas (FELICIANO, 2008). A ultrassonografia tridimensional permite identificar possíveis anomalias fetais que são incompatíveis com a sobrevivência do feto ou que pode causar distocia. Porém, assim como na medicina humana, o exame 3D não é eficaz para se observar viabilidade fetal, tornando-se um exame complementar ao método bidimensional (NEPOMUCENO et al., 2013).

O diagnóstico gestacional em cadelas é importante, pois contribui para aumentar a eficiência reprodutiva dos animais, de modo a adequar precocemente o manejo às novas necessidades da fêmea gestante (FREITAS; SILVA, 2008). Ademais, o acompanhamento desta gestação permite avaliar a viabilidade dos fetos, seja por meio da avaliação do bem-estar fetal (exemplo: averiguar a normalidade do número de batimentos cardíacos dos conceptos em relação à mãe/frequência cardíaca fetal, que é cerca de duas à três vezes maior do que a materna), estimar o número de filhotes, bem como a idade gestacional, e acompanhar a maturação e desenvolvimento fetal (JACKSON, 2006).

Seleção animal tem sido alcançada através do controle reprodutivo do acasalamento de indivíduos com especificidades semelhantes e desejáveis. Animais domésticos selecionados são caracterizados por alto valor zootécnico, genético e econômico. A perda de neonatos no momento do parto tem impacto sentimental, financeiro e importante prejuízo no patrimônio zootécnico de canis e criadores (BECCAGLIA, 2015).

Assim, previsão precisa da data de parto é essencial para uma gestão otimizada da gestação e parição. A monitorização cuidadosa da gestante no período perinatal é um pré-requisito para rápida intervenção em caso de distocia e gestações prolongadas, sendo fundamental para o planejamento de cesariana (KIM et al., 2007).

Os métodos de mensuração fetal são estabelecidos de acordo com o porte do animal e fase gestacional. Nas gestações com idade superior a 40 dias, acredita-se que o uso do diâmetro biparietal (DBP) seja a ferramenta mais precisa e combinado à medida de diâmetro corpóreo do feto (DCF), aumenta-se a exatidão diagnóstica do período gestacional (GARCIA; FELICIANO, 2015). Kutzler (2003) concluiu que para a utilização das fórmulas gestacionais e estimativa de uma data mais precisa do parto, deve-se diminuir dois dias para cadelas de raças grandes e adicionar um dia para cadelas de raças pequenas após o cálculo da idade gestacional, aumentando a acurácia do dia do parto.

Outra influência na precisão dessas medidas que devem ser consideradas são as diferenças entre os tamanhos das ninhadas (fetos únicos são usualmente maiores), além do formato do crânio (dolicocefálicos *versus* braquicefálicos) (NEPOMUCENO et al., 2013).

O exame ultrassonográfico gestacional, além das funções supracitadas, também permite diagnosticar anormalidades gestacionais, como mau desenvolvimento do concepto, reabsorção e abortamento (FELICIANO et al., 2008).

Além disso, este método de diagnóstico nos permite sugerir o desenvolvimento fetal por meio da avaliação da organogênese ao longo da gestação com a visualização dos membros, encéfalo, calcificação e vísceras como o fígado, coração rins, intestinos, estômago e vesícula urinária (AISSI et al., 2008; DAVIDSON; BAKER, 2009). Para tal, os transdutores de alta frequência tornam-se úteis e precisos quando o assunto é precocidade desta avaliação, pois permitem a obtenção de parâmetros métricos mais precisos, para serem utilizados em equações de predição da idade fetal (FELICIANO et al., 2008).

Em obstetrícia humana, a ultrassonografia pulmonar fetal foi aplicada para avaliar a maturidade pulmonar de indivíduos, por meio do estudo da ecotextura dos tecidos fetais (PRAKASH et al., 2002), e diagnóstico de doenças pulmonares fetais, aplicando-se a técnica volumétrica (tridimensional - 3D) (MOEGLIN et al., 2005). No entanto, não há relatos sobre a aplicabilidade da ultrassonografia na avaliação do desenvolvimento e maturidade do fígado e pulmão de fetos caninos.

Estudos utilizando a técnica de alta resolução descrevem com precocidade a visualização de várias estruturas gestacionais: a partir dos 16 dias de gestação em cadelas (FERRARI, 2009) pode-se observar movimento das fibras cardíacas e a presença do embrião como estrutura hiperecoica presente dentro da vesícula gestacional, utilizando transdutor de alta frequência de 12 MHz; aproximadamente 30 dias (AISSI; SLIMANI, 2008), utilizando transdutores de 7,5 MHz, identificaram movimento fetal e presença de conteúdo anaecoico no estômago do feto aos 33 dias; a partir dos 34 e 36 dias observou-se o pulmão mais ecogênico, contrastando com o fígado hipoeicoico (KIM; SON, 2007), foi possível visualizar os rins em fetos de cadelas Schnauzer miniatura aos 42 dias utilizando também transdutores de 7,5 MHz; a utilização de frequências superiores a 10 MHz, demonstram que o aumento da frequência imprime precocidade na visualização das vesículas gestacionais, entretanto, a partir do 35º dia de gestação não há maior sensibilidade na visualização das estruturas fetais e extra-fetais (BURK; FEENEY, 2003).

Atualmente tem se buscado desenvolver novas aplicabilidades para a técnica ultrassonográfica, com o intuito de maximizar o estudo da viabilidade materno-fetal, como estudo desenvolvido por Gil et. al (2014) que avaliaram as mudanças na frequência cardíaca dos fetos na fase final da gestação das cadelas. Estes autores observaram a presença de aceleração e desaceleração cardíaca nos fetos caninos, verificando sua relação com o parto e utilidade na predição do momento ideal para a cesariana. De modo geral, foi possível verificar que estas alterações na frequência cardíaca dos conceptos caninos iniciam-se 72 horas antes do parto, com oscilações mais evidentes nas últimas seis horas antes da parturição. Corroborando, em medicina, Hon (1958) e Caldeyro-Barcia et al. (1957) reportaram que a FC fetal oscila durante a fase I do parto. Eles observaram acelerações transitórias e desacelerações na atividade cardíaca fetal normal resultante das contrações uterinas, o que gera reduções substanciais temporárias na frequência cardíaca fetal, mas que, após um ou dois minutos, volta ao normal, podendo gerar dúvidas se o neonato está mesmo em sofrimento fetal (GARCIA; FELICIANO, 2015).

Outra aplicação recente e mais específica da ultrassonografia gestacional em cadelas é a realização da sexagem fetal. Gil et al. (2015) avaliaram a aparência ultrassonográfica intrauterina da genitália externa em

fetos caninos, determinando o sexo fetal com exatidão elevada entre 55 e 58 dias de gestação. Em felinos, esta avaliação foi descrita no período de 38 a 42 dias de gestação (NEPOMUCENO et al., 2013).

Ademais, Gil et al. (2015) avaliaram a evolução gestacional utilizando ultrassonografia para monitorização do desenvolvimento intestinal e identificação segura do fim da organogênese fetal. No entanto, relataram que mesmo após o desenvolvimento completo do intestino, com visualização das camadas da parede associado ao peristaltismo, a ultrassonografia não deve ser utilizada como único indicativo para precisar a funcionalidade (maturação) deste órgão, não sendo possível determinar se a ultrassonografia intestinal é viável.

2.3.1 Elastografia Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI)

A elastografia foi desenvolvida no início dos anos noventa, sendo considerado método muito promissor em que se 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 Velocidade de Cisalhamento em Tempo Real - VSR) (DUDEA et al., 2011).

A elastografia ARFI é uma técnica de imagem, segura e não invasiva, que fornece medidas quantitativas e qualitativas da rigidez dos tecidos com variabilidade interobservador reduzida. Essa técnica utiliza pulsos acústicos de curta duração, para produzir deslocamentos no tecido examinado. 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 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 do que as áreas escuras (GODDI et al., 2012).

O estudo quantitativo ARFI utiliza impulso acústico primário em direção à 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 atenuação das ondas estão relacionadas com a rigidez e viscoelasticidade do tecido. As ondas apresentam maior velocidade em tecidos rígidos (COMSTOCK, 2011).

Considerando a aplicabilidade clínica das técnicas ARFI, as imagens qualitativas apresentam maior resolução espacial, favorecendo a visualização de informação estrutural, como identificação de lesão ou monitoramentos de áreas de ablação em pacientes humanos. Para outras aplicações clínicas, o estudo quantitativo demonstra ser de melhor utilidade e tem se mostrado promissor para análise quantitativa da rigidez difusa de tecidos, diferenciação de lesões malignas e benignas, com base no estudo da rigidez absoluta e monitorização da progressão de uma enfermidade e resposta à terapia pelo paciente (FELICIANO et al., 2014a).

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 (SRINIVASANET et al., 2004), avaliação miocárdica (NIGHTINGALE, 2011), musculoesquelética e gastrointestinal (PALMERI; NIGHTINGALE, 2011).

Em veterinária, o uso da elastografia ARFI é recente e experimental, sendo utilizada na avaliação de lesões hepáticas focais em ratos (CARVALHO et al., 2011; CARVALHO et al., 2012), estudo 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).

3. Referências

AISSI, A.; ALLOUI, N.; SLIMANI, C.; TOURI, S. Preliminary study of the early ultrasonic diagnosis of pregnancy and fetal development in the dog. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 7, n. 5, p. 607-611, 2008.

AISSI, A.; SLIMANI, S. Ultrasonographic appearance of gestational structures throughout pregnancy in bitches. **American Journal of Animal and Veterinary Sciences**, New York, v. 3, n. 1, p. 32-35, 2008.

APPARÍCIO, M. Neonatologia. In: APARÍCIO, M.; VICENTE, W. R. R. **Reprodução e obstetrícia em cães e gatos**. São Paulo: MedVet, 2015. p. 313-322.

BARRETO C. S. **Avaliação bioquímica, citológica e do perfil eletroforético de proteínas no líquido aminótico e alantoideano de cadelas entre 30-40 dias da gestação e no momento do parto**. 2002. 140 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", 2002.

BARRETO, C. S.; PRESTES N. C.; SOUZA F. F.; SANTOS R. V.; MATAYOSHI P. M.; DE VITA, B.; LEAL, L. S. Uso do teste de clements modificado e densidade óptica do líquido amniótico e alantoidiano para avaliação da maturidade pulmonar em cães. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 63-69, 2011.

BARRETO, C. S.; PRESTES, N. C.; SOUZA F. F.; SANTOS R. V.; MATAYOSHI, P. M.; DE VITA, B.; LEAL, L. S. Concentração proteica nos fluidos fetais como método indicador da maturidade renal de fetos caninos. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 337-345, 2012.

BECCAGLIA, M. Determination of gestational time and prediction of parturition: an update. In: EVSSAR CONGRESS, 18., 2015, Hannover. **Proceedings...** [S.l.: s.n.], 2015. p. 20-25. [Congress Proceedings Book].

BONANNO, C.; WAPNER, R. Antenatal corticosteroid treatment: what's happened since Drs Liggins and Howie? **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Philadelphia, v. 200, n. 4, p. 448-457, 2009.

BURK, R. L.; FEENEY D. A. **Small animal radiology and ultrasonography: a diagnostic atlas and text**. St Louis: Elsevier Inc, 2003.

CALDEYRO-BARCIA, R.; SICA-BLANCO, Y.; POSEIRO, J. J.; GONZALEZ PANIZZA, V.; MENDEZ-BAUE, C.; FIELITZ, C.; ALVAREZ, H.; POSE, S. V.; HENDRICKS, C. H. A quantitative study of the action of synthetic oxytocin on the pregnant human uterus. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, Bethesda, v. 121, n. 1, p. 18-31, 1957.

CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C.; OLIVEIRA, C.P.M.S.; COGLIATI, B. CARRILHO, F.J.; CERRI, G.G. Elastography and contrast-enhanced ultrasonography improves early detection of hepatocellular carcinoma in an experimental model of NASH. **Journal of Hepatology**, Amsterdam, v. 3, n. 2, 96-101, 2012.

CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C.; DE LIMA, V. M. R.; OLIVEIRA, C. P. M. S. Elastography and contrast-enhanced ultrasonography of focal lesions in an experimental model of hepatocellular carcinoma. In: EVDI LONDON CONFERENCE, 2011, Londres. **Proceedings...** [S.l.]: Scientific Program of EVDI, 2011.

CRISSIUMA, A. L.; LABARTHE, N. V.; SOARES, A. M. B.; JUPPA JUNIOR, C. J.; MANNARINO, R.; GERSHONY, L. C. Aspectos cardiorrespiratórios e ácidos-básicos do período de transição fetal-neonatal em cães. **Revista Clínica Veterinária**, [S.l.], v. 10, n. 57, p. 36-40, 2005.

CUELLO, A. F.; AQUIM, E. E.; MASCIANTONIO, L. **Terapêutica funcional respiratória del recién nacido**. Buenos Aires: Intermédica, 1993.

DAVIDSON, A. P.; BAKER, T. W. Reproductive ultrasound of the bitch and queen. **Topics in Companion Animal Medicine**, Maryland Heights, v. 4, n. 2, p. 55- 63, 2009.

DÍAZ, R. A. C.; MILLO, J. A. M.; DOMÍNGUEZ, N. C. Evaluación del surfacén em el síndrome de dificultad respiratoria del prematuro. **Revista Cubana de Pediatría**, Havana, v. 72, n. 4, p. 287-294, 2000.

DUDEA, S. M.; GIURGIU, C. R.; DUMITRIU, D.; CIUREA, A.; BOTAR-JID, C. Value of ultrasound elastography in the diagnosis and management of prostate carcinoma. **Medical Ultrasonography**, Cluj-Napoca, v. 13, n. 1, p. 45-53, 2011.

EIGENMANN, U. J. E.; SCHOON, H. A.; JAHN, D.; GRUNERT, E. Neonatal respiratory distress syndrome in the calf. **Veterinary Records**, London, v. 11, n. 6, p. 141-144, 1984.

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**, Chichester, v. 56, n. 3, p. 180-183, 2014b.

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

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

FELICIANO, M. A. R.; VICENTE, W. R. R.; LEITE, C. A. L.; MUZZI, L. A. L. Novas perspectivas no diagnóstico ultra-sonográfico gestacional em cadelas – revisão de literatura. **Clínica Veterinária**, [S.l.], v. 13, n. 73, p. 56-60, 2008.

FELICIANO, M. A. R.; CARDILLI, D. J.; NEPOMUCENO, A. C.; CRIVELARO, R. M.; SILVA, M. A. M.; COUTINHO, M. E. F.; VICENTE, W. R. R. Echobiometrics kidney and renal artery triplex doppler of canine fetuses. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science**, Belo Horizonte, v. 66, n. 2, p. 445-449, 2014a.

FELICIANO, M. A. R.; NEPOMUCENO, A. C.; CRIVELARO, R. M.; OLIVEIRA, M. E. F.; COUTINHO, L. N.; VICENTE, W. R. R. Fetal echoencephalography and Doppler ultrasonography of the middle cerebral artery in canine fetuses. **Journal of Small Animal Practice**, Chichester, v. 54, n. 3, p. 149-152, 2013.

FERRARI, M. **Ultrassonografia de alta frequência para avaliação do desenvolvimento gestacional e da fetometria em cadelas.** 2009. 51f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiânia, Goiânia, 2009.

FIELD, N. T.; GILBERT, W. M. Current status of amniotic fluid tests of fetal maturity. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, Philadelphia, v. 40, p. 366–386, 1997.

FREITAS, J. G.; SILVA, A. R. Diagnóstico de gestação em cadelas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 32, n. 1, p. 58-66, 2008.

GARCIA, D. A. A.; FELICIANO, M. A. R. Sistema reprodutor feminino. 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. 335-352.

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**, Chichester, v. 56, n. 8, p. 505-509, 2015.

GIL, E. M. U.; GARCIA, D. A. A.; GIANNICO, A. T.; FROES, T. R. Canine fetal heart rate: Do accelerations or decelerations predict the parturition day in bitches? **Theriogenology**, Philadelphia, v. 82, n. 7, p. 933-991, 2014.

GIL, E. M. U.; GARCIA, D. A. A.; GIANNICO, A. T.; FROES, T. R. Use of B-mode ultrasonography for fetal sex determination in dogs. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 84, n. 6, p. 875-879, 2015.

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

GRUNDY, S. A. Clinically relevant physiology of the neonate. **Veterinary Clinics of North America**, Maryland Heights, v. 36, p. 443-459, 2006.

HERMANSEN, C. L.; LORAH, K. N. Respiratory distress in the Newborn. **American Family Physician**, Shawnee Mission, v. 76, n. 7, p. 987-995, 2007.

HOLDSWORTH, A.; BRADLEY, K.; BIRCH, S.; BROWNE, W.J.; BARBERET, V. Elastography of the normal canine liver, spleen and kidneys. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, Hoboken, v. 55, n. 6, p. 620-627, 2014.

HON, E. H. The electronic evaluation of the fetal heart rate: preliminar report. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Philadelphia, v. 75, n. 6, p. 1215-1230, 1958.

JACKSON, P. G. G. **Obstetrícia veterinária**. São Paulo: Roca, 2006.

KIKKAWA, Y.; KAIBARA, M.; MOTOYAMA, E. K.; ORZALESI, M. M.; COOK, C. D. Morphologic development of fetal rabbit lung and its acceleration with cortisol. **American Journal of Pathology**, New York, v. 2, p. 423-442, 1971.

KIM, B. S.; SON, C. H. Time of initial detection of fetal and extra fetal structures by ultrasonographic examination in miniature schnauzer bitches. **Journal of Veterinary Science**, Seoul, v. 8, n. 3, p. 289-293, 2007.

KOPELMAN, B. I.; MIYOSHI, M. H.; GUINSBURG, R. **Distúrbios respiratórios no período neonatal**. São Paulo: Atheneu, 1998.

KOSCH, P. C.; KOTERBA, A. M.; COONST, T. J.; WEBB, A. I. Development in management of the newborn foal in respiratory distress 1: Evaluation. **Equine Veterinary Journal**, Hoboken, v. 16, n. 4, p. 312-318, 1984.

KUSTRITZ, M. V. R. Pregnancy diagnosis and abnormalities of pregnancy in the dog. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 64, n. 3, p. 755-765, 2005.

KUTZLER, M. A.; YEAGER, A. E.; MOHAMMEN, H. O.; MEYERS-WALLEN, V. N. Accuracy of canine parturition date prediction using fetal measurements obtained by ultrasonography. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 60, n. 7, p. 1309-1317, 2003.

LÚCIO, C. F.; SILVA, L.; RODRIGUES, J. A.; VEIGA, G. A.; VANNUCCHI, C. I. Acid-base changes in canine neonates following normal birth or dystocia. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlim, v. 44, n. 2, p. 208-210, 2009.

LUZ, J. H. **Teste das microbolhas estáveis na avaliação da função surfatante in vitro**. 2001. 128 f. Dissertação (Doutorado em Saúde da Criança) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

MICHAELIS. **Moderno dicionário da língua portuguesa**. São Paulo: Companhia Melhoramentos, 1998. p. 2259.

MOEGLIN, D.; TALMANT, C.; DUYME, M.; LOPEZ, A. C. Fetal lung volumetry using two and three dimensional ultrasound. **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, Chichester, v. 25, n. 2, p. 119-127, 2005.

NEPOMUCENO, A. C.; GARCIA, D. A. A.; BARROS, F. F. P. C.; COUTINHO, L. N.; FELICIANO, M. A. R. Ultrassonografia do sistema reprodutor feminino de pequenos animais. In: FELICIANO, M. A. R.; OLIVEIRA, M. E. F.; VICENTE, W. R. R. (Ed). **Ultrassonografia na reprodução animal**. São Paulo: MedVet, 2013. p. 41-67.

PALMERI, M. L.; NIGHTINGALE, K. R. Acoustic radiation force-based elasticity imaging methods. **Interface focus**, Reino Unido, v. 1, n. 4, p. 553-564, 2011.

POLGLASE, G. R.; NITSOS, I.; JOBE, A. H.; NEWNHAM, J. P.; MOSS, T. J. Maternal and intra-amniotic corticosteroid effects on lung morphometry in preterm lambs. **Pediatric Research**, New York, v. 62, n. 1, p. 32-36, 2007.

PRAKASH, K. N. B.; RAMAKRISHNAN, A. G.; SURESH, S.; CHOW, W. P. Fetal lung maturity analysis using ultrasound image features. **IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine**, Piscataway, v. 6, p. 38-45, 2002.

PRATS, A. **Neonatologia y pediatria**. Buenos Aires: Inter-Médica, 2004. p. 506.

RADES, E.; BITTAR, R. E.; ZUGAIB, M. Determinantes diretos do parto prematuro eletivo e os resultados neonatais. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, São Paulo, v. 26, n. 8, p. 655–662, 2004.

REBELLO, C. M.; PROENÇA, R. S. M.; TROSTER, E. J.; JOBE, A. H. Terapia com surfactante pulmonar exógeno: o que é estabelecido e o que necessitamos determinar. **Journal of Pediatrics**, Philadelphia, v. 78, p. 215-226, 2002.

RODRIGUES, M. I. G. **Tratamento da hipertensão pulmonar persistente do recém-nascido**. 2008. 90f. Tese (Mestrado em Medicina) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal. Disponível em: http://www.fcsaude.ubi.pt/thesis/upload/118/731/marisarodrigues_hppr.pdf. Acesso em: 04 out. 2010.

SERRA, E. G.; GUIMARÃES, K. S. Avaliação ultra-sonográfica da gestação na espécie canina. **Clínica Veterinária**, [S.l.], v. 1, n. 5, p. 18-19, 1996.

SILVA, L. C. G. **Parâmetros clínicos, hemogasométricos e radiográficos para avaliação respiratória de neonatos caninos nascidos em eutocia ou cesariana eletiva**. 2008. 76 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SILVA, L. D. M.; BARBOSA, C. C.; PEREIRA, B. S. O uso da ultrassonografia Doppler na reprodução de cadelas e gatas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 198-201, 2011.

SIPRIANI, T. M.; GRANDI, F.; SILVA, L. C. G.; MAIORKA, P. C.; VANNUCHI, C. I. Pulmonary maturation in canine fetuses from early pregnancy to parturition. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 44, n. 2, p. 137-140, 2009.

SORRIBAS, C. E. **Atlas de neonatología y pediatria en caninos**. Buenos Aires: Inter-Médica, 2007.

SRINIVASAN, S.; KROUSKOP, T.; OPHIR, J. A quantitative comparison of modulus images obtained using nanoindentation with strain elastograms. **Ultrasound in Medicine e Biology**, Philadelphia, v. 30, n. 7, p. 899-914, 2004.

TONIOLLO, G. H.; VICENTE, W. R. R. **Manual de obstetrícia veterinária**. São Paulo: Varela, 2003.

VESTWEBER, J. G. Respiratory problems of newborn calves. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**, Maryland Heights, v. 13, n. 3, p. 411-424, 1997.

VIEIRA, A. C. G. **Contagem de corpos lamelares na secreção traqueal de recém-nascidos para avaliação da maturidade pulmonar**. 2010. 77 f. Dissertação (Doutorado em Saúde da Criança) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

CAPÍTULO 2 – Características ecotexturais e elastográficas do parênquima pulmonar e hepático de fetos caninos durante a última semana de gestação

RESUMO – A maturação pulmonar e hepática fetal peri-parto nas espécies de interesse veterinário não tem sido avaliada sistematicamente por métodos diagnósticos não invasivos. Assim, o objetivo deste estudo foi caracterizar o desenvolvimento final do parênquima pulmonar e hepático de fetos caninos durante a última semana de gestação por meio da ultrassonografia modo B e elastografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse). Quinze cadelas gestantes e clinicamente saudáveis foram selecionadas para este estudo. A partir do 56º dia de gestação até o momento do parto (tempo 0), a ultrassonografia transabdominal foi realizada diariamente, a cada 12 horas, com a utilização do aparelho ACUSON S2000/SIEMENS e softwares específicos, com as imagens obtidas a partir de -96 a 0 horas utilizadas para análises dos dados. Ecotextura, ecogenicidade, análise quantitativa (heterogeneidade de pixel, valores de pixel numéricos) e elastografia qualitativa (elastograma) e quantitativa (velocidade de cisalhamento) do pulmão e fígado fetal foram realizadas. O pulmão e fígado fetal mostraram ecotextura homogênea, com o parênquima pulmonar hiperecoico em relação ao hepático. O valor médio para valores de pixels numéricos bem como os valores mínimo e máximo de pixels do pulmão fetal diminuíram significativamente ($p = 0,04$) das 96 às 24 horas anteriores ao parto. Pulmões e fígado fetais nas últimas 96 horas de gestação não se apresentaram deformáveis pela elastografia e os valores da velocidade de cisalhamento para o tecido pulmonar fetal (IC = 0,83 - 0,86 m/s) e hepático (IC = 0,97 - 1,01 m/s), não variaram ao longo das 96 horas do período de observação ($p = 0,69$ e 0,32, respectivamente). A avaliação ultrassonográfica e elastográfica pulmonar e hepática fetal podem ser facilmente realizadas durante a última semana gestacional em cadelas e aplicadas como métodos não invasivos para acompanhar o desenvolvimento perinatal destes órgãos.

Palavras-chave: canino, gestacional, maturidade fetal, neonatologia, ultrassonografia

Introdução

A cada ano, os nascimentos prematuros (definidos como partos que ocorrem antes de 37 semanas de gestação), em humanos, afetam pelo menos 15 milhões de gestações em todo o mundo [1].

Complicações associadas com o nascimento prematuro, incluindo baixo peso ao nascimento e inadequado desenvolvimento de órgãos dos indivíduos, são as principais causas de mortalidade e morbidade em crianças menores de cinco anos de idade. O subdesenvolvimento de qualquer tecido pulmonar ou hepático leva ao comprometimento funcional da respiração e do metabolismo, sendo um fator de risco para o surgimento de doenças, incluindo a síndrome do desconforto respiratório e icterícia, respectivamente [2].

Ao longo dos últimos 20 anos, as taxas de natalidade prematuras globais têm aumentado e continua a ser grande preocupação em países de baixa renda; mais de 90% dos casos de nascimento prematuro (antes de 28 semanas de gestação) nos países em desenvolvimento acabam em mortalidade após os primeiros dias de vida, em comparação com uma taxa menor que 10% em países mais desenvolvidos [1].

A detecção oportuna de nascimentos prematuros e tratamento adequado dos indivíduos, dependem diretamente da assistência médica disponível nos países. Atualmente, a maioria dos métodos de diagnóstico para detecção da prematuridade fornecem informação limitada sobre o *status* dos tecidos fetais e, em alguns casos, pode ser bastante invasiva. Na melhor das hipóteses, essas ferramentas servem principalmente como estimadores do nascimento iminente, mas não fornecem informações adequadas para preparar os médicos para eventuais tratamentos pós-natal necessários.

Duas técnicas de diagnóstico comumente utilizadas para a avaliação de prematuridade em mulheres gestantes são a ultrassonografia modo B em tempo real e a elastografia “supersonic shear imaging (SSI)” da cérvix uterina. Embora a imagem ultrassonográfica modo B em tempo real, possa efetivamente ser usada para determinar o tamanho e posicionamento fetal, muitos médicos e pesquisadores recentemente voltaram-se a avaliação da cérvix uterina como medida de diagnóstico mais precisa do trabalho de parto prematuro, visando o sucesso na indução da parturição. Usando a elastografia

SSI, Peralta et al (2015) [3], observaram decréscimo significativo na rigidez da cérvix durante o trabalho de parto, após a administração de dexametasona, em ovelhas gestantes.

Ainda que estes métodos sejam úteis para detectar o início do trabalho de parto, eles ainda não conferem informações suficientes sobre as chances de sobrevivência pós-natal do recém-nascido. Embora na prática obstétrica, a ultrassonografia pulmonar 3D (volumétrica) possa ser empregada para avaliar a maturidade pulmonar e o estado de saúde individual dos fetos, baseado na estimativa das dimensões do tecido e da sua ecotextura geral [4,5], não existem estudos sistemáticos sobre as mudanças na imagem quantitativa dos órgãos do feto, durante o período do pré-parto.

A ultrassonografia gestacional em cadelas é um método seguro e confiável para detecção de gestação e avaliação não invasiva da viabilidade fetal [6,7,8]. Recentemente, estudos ultrassonográficos mais específicos de tecidos maternos e fetais foram realizados para avaliar o desenvolvimento e maturidade de fetos caninos e prever o período do parto. Tais estudos envolveram a ecoencefalografia fetal [9], ultrassonografia renal fetal [10], bem como avaliação da função cardíaca [11] e desenvolvimento intestinal de conceptos caninos [12]. No entanto, não há relatos sobre a aplicabilidade da ultrassonografia para avaliação do desenvolvimento do fígado e pulmão canino, antes do nascimento.

A elastografia acoustic radiation force impulse (ARFI) é uma técnica ultrassonográfica relativamente nova, projetada para mensurar a elasticidade dos tecidos *in situ* [13,14]. Em medicina veterinária, a ultrassonografia ARFI tem sido utilizada para avaliar tumores da glândula mamária em cadelas [14] e várias alterações patológicas em baço canino [15], fígado e rins caninos [16], em baço [17] e rins de felinos [18], próstata e testículos de cães [19]. No entanto, não há estudos elastográficos de tecidos fetais em seres humanos ou espécies animais de interesse veterinário, utilizando a técnica ARFI.

Assim, o objetivo principal deste estudo foi caracterizar o desenvolvimento do parênquima pulmonar e hepático de fetos caninos durante a última semana gestacional por meio da ultrassonografia modo B e elastografia. Os objetivos específicos foram: i) determinar as características qualitativas e quantitativas e valores de referência para ambos os tecidos em

relação à maturidade dos fetos e ii) comparar a utilidade da análise de imagem computadorizada modo B com a elastografia ARFI, acompanhando as alterações perinatais do parênquima hepático e pulmonar.

Material e Métodos

Todo procedimento experimental foi realizado com a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”/UNESP, Campus de Jaboticabal, Brasil (protocolo nº 11765/14).

Foram avaliadas 15 fêmeas saudáveis, primíparas e múltiparas, provenientes de proprietários e canis da região de Jaboticabal/SP, das raças Dobermann pinscher (n=4), Shih-tzu (n=7) e Buldogue francês (n=4), com peso médio de $7,03 \pm 3,64$ kg e idade média de $2,5 \pm 1,21$ anos, selecionadas para esse estudo (Tabela1).

Tabela 1. Identificação (ID), raça, peso (kg) e idade (meses) das fêmeas selecionadas para o estudo, provenientes de proprietários e canis da região de Jaboticabal/SP.

Identificação (ID)	Raça	Peso (kg)	Idade (meses)
M1	Buldogue francês	9,0	48
M2	Dobermann pinscher	2,1	42
M3	Buldogue francês	13,0	36
M4	Shih-tzu	6,9	48
M5	Dobermann pinscher	3,0	36
M6	Shih-tzu	7,9	24
M7	Dobermann pinscher	3,9	24
M8	Buldogue francês	15,0	24
M9	Shih-tzu	8,0	30
M10	Shih-tzu	6,0	7
M11	Shih-tzu	6,2	48
M12	Buldogue francês	10,2	36
M13	Dobermann pinscher	3,3	12
M14	Shih-tzu	5,0	15
M15	Shih-tzu	6,0	60

Como exame prévio dos animais e seleção da amostragem experimental realizou-se anamnese (histórico de sanidade reprodutiva, ou seja, sem antecedentes de afecções reprodutivas), exames físico e obstétrico (avaliação do estado geral dos animais e inspeção do trato reprodutor das fêmeas). Os machos foram considerados aptos para reprodução após efetuados o exame andrológico, incluindo exame físico (inspeção peniana e da bolsa escrotal e palpação testicular), ultrassonografia testicular e avaliação seminal (espermograma). Os reprodutores também foram submetidos a hemograma,

função renal e hepática; essas avaliações precederam a cruza ou inseminação das fêmeas com os machos saudáveis selecionados.

Os proprietários foram treinados para detectar os primeiros sinais de proestro e determinar o momento ideal para o acasalamento ou Inseminação Artificial (IA). Subsequentemente, a fase cíclica ovariana foi confirmada pela observação dos sinais de estro (ou seja, receptividade sexual) e por citologia vaginal (detecção de células superficiais anucleadas em esfregaços) [20].

Depois de observar os sinais de estro nas cadelas, os cães foram submetidos a monta natural ou IA (Tabela 2), sendo estabelecido um protocolo de três inseminações com sêmen fresco a intervalo de 48 horas, com prévia análise de citologia vaginal a cada IA.

Tabela 2. Identificação (ID), concepção por monta natural (MN) ou Inseminação Artificial (IA) e tipo de parto, normal ou cesariana das cadelas.

Identificação	Monta Natural (MN)/ Inseminação Artificial (IA)	Parto Normal/ Cesariana
M1	MN	Parto Normal
M2	MN	Cesariana
M3	IA	Cesariana
M4	MN	Parto Normal
M5	MN	Parto Normal
M6	MN	Cesariana
M7	MN	Cesariana
M8	MN	Parto Normal
M9	MN	Parto Normal
M10	MN	Cesariana
M11	IA	Parto Normal
M12	IA	Parto Normal
M13	MN	Cesariana
M14	MN	Parto Normal
M15	MN	Parto Normal

A IA foi realizada de acordo com a técnica descrita por Souza et al (2015) e Martins et al (2015) [21], o sêmen foi coletado pela manipulação digital peniana, com a coleta da segunda (espermática) e terceira fração (pós-espermática) de ejaculado depositada em tubo falcon graduado com o auxílio de funil plástico, o material usado na colheita foi previamente aquecido evitando choques térmicos às células espermáticas. Após a colheita, o ejaculado foi submetido à avaliação espermática macro e microscópica, devendo apresentar normal concentração, com motilidade mínima de 70%,

com aceitabilidade de 30% de defeitos totais e máximo de 10% de defeitos maiores. Após análise, o sêmen fresco foi depositado via intrauterina na fêmea com o auxílio de pipeta plástica de 22 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro, a pipeta foi introduzida pelo canal vaginal, através da abertura vulvar em ângulo de 45° (dorsalmente) e posicionada na porção cranial da vagina, próxima ao óstio cervical externo. Após a inserção correta da pipeta, a seringa contendo o sêmen foi acoplada à porção distal externa da pipeta e o sêmen foi lentamente depositado no fundo da vagina em volume médio de 3 mL. A vulva foi massageada para estímulo da contração uterina, durante o procedimento a fêmea permaneceu com os membros pélvicos elevados, formando um ângulo de 30° com a linha do piso, por 10 minutos, auxiliando a entrada de espermatozoides no útero e migração na tuba uterina e evitando o refluxo de sêmen.

O diagnóstico gestacional foi realizado duas semanas após a monta natural ou IA, de acordo com a metodologia empregada em outros estudos [6], com a utilização do aparelho ultrassonográfico ACUSON S2000/SIEMENS e transdutor linear de 9,0 MHz.

Sucedeu-se semanalmente uma avaliação ultrassonográfica modo B entre a quinta e oitava semana de gestação. Para confirmar a validade dos períodos gestacionais utilizados para a coleta dos dados, foi determinada a idade gestacional pelos achados ultrassonográficos e da fórmula: [idade gestacional = (6 x diâmetro parietal) + (3 x diâmetro abdominal) + 30] e observação dos achados de imagem compatíveis com o período de avaliação [20].

As coletas foram realizadas a partir do 56° dia de gestação até o momento do parto, sendo que todos os animais foram submetidos à ultrassonografia duas vezes ao dia, a cada 12 horas. O momento do parto ou quando necessária intervenção cirúrgica das fêmeas gestantes foi considerado o tempo 0 e os parâmetros coletados até 96 horas antes deste tempo foram considerados para análise (horas antes do parto HAP: 0, -12, -24, -36, -48, -60, -72, -84, -96).

Para gestações com número maior ou igual a três fetos, um mínimo de três fetos de cada cadela foi analisado; nos casos de gestações inferiores a três fetos, todos os fetos de cada cadela foram avaliados (preferencialmente,

as avaliações foram realizadas nos mesmos fetos considerando sua localização topográfica). Foram avaliadas em cortes transversais e longitudinais dos fetos, a ecogenicidade (hipoecoica, isoecoica, hiperecoica ou mista) e ecotextura (homogênea e heterogênea) pulmonar e hepática dos conceptos.

As imagens ultrassonográficas modo B contendo a maior área em corte transversal dos órgãos foram salvos como imagens digitais (*) .jpeg. Para avaliação quantitativa das características ecotexturais pulmonar fetal canina, procedeu-se análise de imagem computadorizada do parênquima pulmonar e hepático, utilizando software comercial de análise de imagem (Image ProPlus®, Media Cybernetics Inc., San Diego, Califórnia, Estados Unidos (Figura 1). Uma ferramenta de contagem de polígono foi usada para calcular os valores médios numéricos de pixel (NPVs; dados ecotexturais), heterogeneidade de pixel (desvio padrão de NPVs), bem como os valores de pixel mínimo e máximo de cada uma das áreas de interesse. Para essas avaliações, foi selecionado ao acaso um feto por cada fêmea avaliada.



Figura 1: Imagem em secção longitudinal da ultrassonografia de feto canino com demarcação da área pulmonar (vermelho), demarcação do sombreamento acústico formado pelas costelas (branco) e histogramas (à esquerda) para a avaliação quantitativa da ecogenicidade do tecido. Fonte (Arquivo Pessoal, 2015).

Para a elastografia ARFI pulmonar e hepática fetal também foi utilizado o mesmo aparelho e transdutor linear multifrequencial de 9,0 MHz [14], sendo que a análise dos parâmetros elastográficos foi realizada com o software específico para as análises elastográficas qualitativas e quantitativas (Virtual Quantificação Tissue touch, Siemens, Alemanha).

Imediatamente após os exames ultrassonográficos, empregou-se a técnica elastográfica ARFI qualitativa, onde foram formadas imagens em escala de cinza do tecido pulmonar dos conceptos caninos, para avaliação da rigidez tecidual relativa (elastograma). Para a imagem elastograma formada, as regiões claras demonstraram que o tecido é mais elástico (“soft”/menos rígido ou mais deformável) do que as áreas escuras (“hard”/mais rígida e não deformável). Ademais, essas imagens foram comparadas às obtidas pela ultrassonografia convencional correspondente e as amostras elastográficas qualitativas e quantitativas do parênquima hepático fetal, devido à importância dos tecidos e sua proximidade a imagem ultrassonográfica, visando facilitar a equiparação dos resultados obtidos pelo estudo do tecido pulmonar dos conceptos.

A avaliação elastográfica quantitativa implicou na determinação dos valores da velocidade de cisalhamento; para padronização da técnica, foram realizadas seis medições em cada órgão (parênquima pulmonar e hepático), com profundidade variando de 0,5 a 3,0 cm. Essas amostras foram obtidas e usadas para o cálculo de velocidade média de cisalhamento, com o uso do calíper, que consiste em uma ferramenta de mensuração no sistema de diagnóstico sendo ajustado para assegurar que quantidade suficiente dos tecidos fossem avaliadas.

Os dados foram analisados com o software R® (R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria). Os dados coletados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com prévia comprovação dos supostos matemáticos (teste de Shapiro, teste de variância), em delineamento experimental inteiramente casualizado com blocos (cadela gestantes) e os contrastes para os momentos de avaliação (linear, quadrático e modelos cúbicos), se houvesse diferenças entre os resultados avaliados (horas antes do parto; HAP). Usando a correlação de Spearman objetivou-se identificar a

relação entre as variáveis estudadas e os momentos de avaliação. Foi utilizado nível de significância de 5% ($p < 0,05$), para todos os testes realizados. Todos os dados não paramétricos (isto é, ecotextura e ecogenicidade, bem como a detecção de deformidades em escala de cinza na ultrassonografia hepática e pulmonar) foram anotados.

Resultados

A média do período gestacional nas cadelas do presente estudo foi de $59,4 \pm 1,12$ dias (intervalo 57-61) a partir do último dia de acasalamento e o número médio de filhotes por gestação foi de $4,47 \pm 2,3$. Todos os animais apresentaram gestação normal e não foi observada qualquer anormalidade nos fetos durante o período gestacional. Especificamente, um total de 39 conceptos caninos foram avaliados, com um valor médio de $2,6 \pm 0,63$ de fetos avaliados por cadela gestante (Tabela 3).

Tabela 3. Identificação (ID), período gestacional (dias), número de filhotes por gestação e número de fetos avaliados por gestação das cadelas.

Identificação	Período	Número de filhotes	Número de fetos
(ID)	gestacional (dias)	por gestação	avaliados por gestação
M1	59	4	3
M2	60	1	1
M3	61	6	3
M4	60	4	3
M5	59	3	2
M6	58	7	3
M7	60	4	3
M8	60	9	3
M9	57	5	3
M10	58	2	2
M11	59	6	3
M12	59	8	3
M13	61	2	2
M14	60	4	3
M15	60	2	2

Todas as imagens ultrassonográficas (modo B) do parênquima pulmonar e hepático (Figura 2) obtidas durante as últimas 96 horas de gestação apresentaram ecotextura homogênea, com ecogenicidade hiperecoica do tecido pulmonar em relação ao fígado.

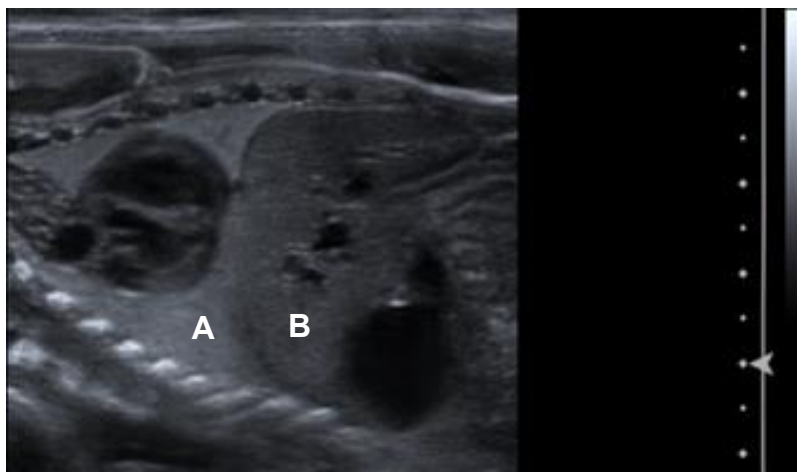


Figura 2: Imagem em secção longitudinal ultrassonográfica modo B do parênquima pulmonar (A) e hepático (B) de feto canino durante a última semana gestacional, apresentando ecotextura homogênea e ecogenicidade hipercoica do tecido pulmonar em relação ao fígado. Fonte (Arquivo Pessoal, 2015).

Usando a técnica de medidas pontuais múltiplas foram avaliados $73,0 \pm 9,0\%$ do total de tecido pulmonar e $70,0 \pm 15,0\%$ do total de tecido do parênquima hepático, livre de quaisquer artefatos de imagem, foram submetidos à análise ecotextural quantitativa.

Verificou-se que houve um efeito significativo do tempo para as alterações teciduais em valores médios do número de pixel (NPVs; $p = 0,04$), assim como para a intensidade de pixel mínimo e máximo do tecido pulmonar. Estes valores diminuiram significativamente a partir de 96 até às 24 horas antes do parto e, posteriormente, os valores aumentaram até o momento do parto ($p = 0,02$, $r = 0,57$) (Figura 3).

Para a heterogeneidade de pixel (desvio padrão dos NPV) dos pulmões fetais, não foi verificada modificação significativa durante os últimos quatro dias de gestação e não houve diferença significativa ($p \geq 0,16$) em qualquer um dos parâmetros ecotexturais de tecido hepático canino analisado neste estudo (Tabela 4 e 5). Por fim, não houve correlações significativas entre a velocidade de cisalhamento e características ecotexturais estudadas do parênquima hepático ($p \geq 0,08$) e pulmonar ($p \geq 0,11$).

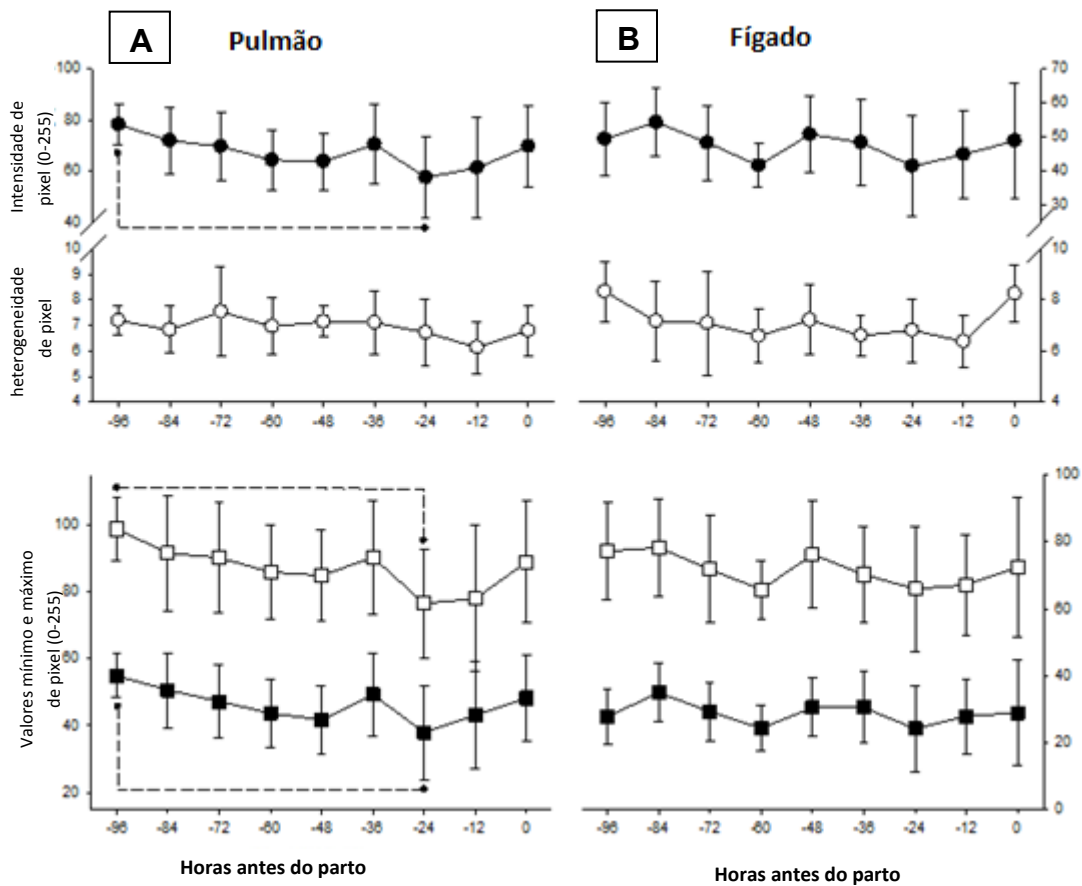


Figura 3: Ilustração gráfica da intensidade, heterogeneidade e valores mínimo e máximo de pixel do parênquima fetal pulmonar (A) e hepático (B) entre -96 horas até o momento do parto durante a última semana da gestação nas fêmeas caninas.

Tabela 4. Valores médios e desvio padrão (DP), mínimo e máximo da média numérica de pixel do parênquima pulmonar de fetos caninos, em horas antes do parto (HAP).

HAP (horas)	NPV Valores médios	NPV DP	NPV Mínimo	NPV Máximo
-96	78,05 ± 7,67	7,19 ± 0,56	54,90 ± 6,55	98,84 ± 9,29
-84	71,84 ± 13,02	6,82 ± 0,92	50,68 ± 11,18	91,65 ± 17,12
-72	69,53 ± 13,08	7,53 ± 1,76	47,24 ± 10,91	90,28 ± 16,43
-60	64,22 ± 11,69	6,96 ± 1,09	43,73 ± 10,15	86,02 ± 14,17
-48	63,76 ± 11,13	7,14 ± 0,61	41,75 ± 10,10	84,95 ± 13,68
-36	70,38 ± 15,37	7,10 ± 1,21	49,29 ± 12,56	90,40 ± 17,14
-24	57,44 ± 15,78	6,72 ± 1,30	37,96 ± 14,10	76,64 ± 16,34
-12	61,25 ± 19,69	6,14 ± 1,02	43,10 ± 16,08	78,04 ± 21,88
0	69,63 ± 15,95	6,79 ± 0,98	48,23 ± 12,70	88,98 ± 18,24
Valor de p	0,035	0,133	0,035	0,035
Média ± DP	66,67 ± 14,91	6,91 ± 1,16	45,84 ± 12,52	86,55 ± 17,14
IC (95%)	63,53 – 69,81	6,67 – 7,16	28,03 – 61,93	62,41 – 108,7

Tabela 5. Valores médios e desvio padrão (DP), mínimo e máximo da média numérica de pixel do parênquima hepático de fetos caninos, em horas antes do parto (HAP).

HAP (horas)	NPV Valores médios	NPV DP	NPV Mínimo	NPV Máximo
-96	49,22 ± 10,49	8,31 ± 1,16	27,75 ± 8,13	77,20 ± 14,47
-84	54,18 ± 9,89	7,15 ± 1,56	34,88 ± 8,74	78,33 ± 14,72
-72	48,19 ± 10,84	7,08 ± 2,03	29,15 ± 8,68	71,77 ± 16,09
-60	41,54 ± 6,34	6,57 ± 1,04	24,26 ± 6,88	65,73 ± 8,66
-48	50,65 ± 11,26	7,20 ± 1,36	30,43 ± 8,85	76,25 ± 15,93
-36	48,29 ± 12,44	6,59 ± 0,78	30,41 ± 10,71	70,42 ± 14,53
-24	41,36 ± 14,68	6,80 ± 1,24	24,04 ± 12,73	65,96 ± 18,67
-12	44,77 ± 12,99	6,37 ± 1,03	27,86 ± 11,15	67,14 ± 14,99
0	48,73 ± 16,99	8,23 ± 1,12	28,86 ± 15,80	72,46 ± 21,11
Valor de p	0,16	0,61	0,47	0,52
Média ± DP	47,13 ± 12,44	7,27 ± 3,69	28,47 ± 10,75	71,21 ± 15,91
IC (95%)	44,58 – 49,68	6,52 – 8,02	15,89 – 41,73	53,68 – 92,01

As características elastográficas qualitativas e quantitativas do pulmão e fígado fetal foram determinadas sem quaisquer dificuldades. Com base na elastografia qualitativa (Figura 3 e 4) dos tecidos fetais caninos, o parênquima pulmonar e hepático fetal não se apresentaram deformáveis nas últimas 96 horas de gestação.

Durante a última semana gestacional o parênquima hepático se apresentou com maior rigidez (cinza-médio) quando comparado ao tecido pulmonar (cinza-claro) (Figura 4). Essas características se mantiveram constantes até o momento do parto das cadelas.

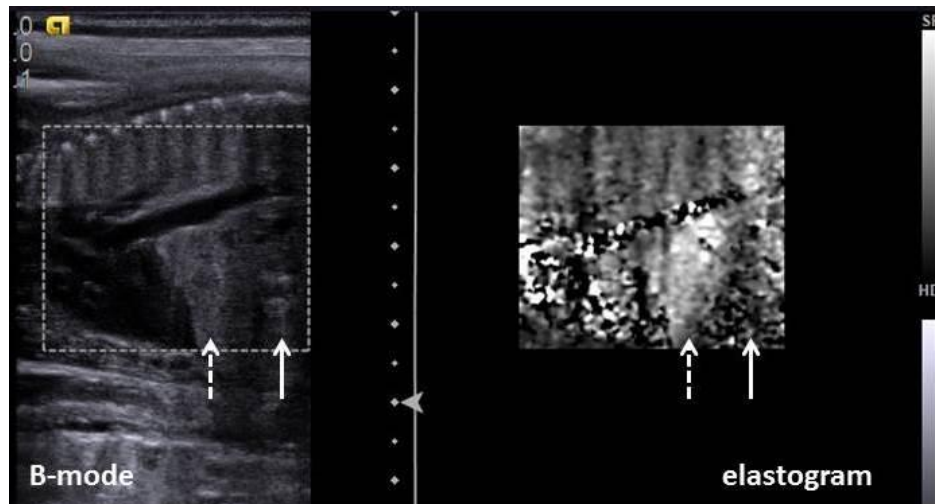


Figura 4: Imagem em secção longitudinal da ultrassonografia modo B e elastograma do parênquima pulmonar (seta pontilhada; cinza-claro) e hepático (seta contínua; cinza-médio) de fetos caninos. Fonte (Arquivo Pessoal, 2015).

Quanto ao método ARFI quantitativo (Figura 5), as velocidades de cisalhamento do pulmão e fígado fetal (Tabela 6 e Figura 6) não variaram ao longo do período de observação, ou seja, nas horas antes do parto avaliadas ($p = 0,68$ e $0,31$ para o parênquima pulmonar e hepático, respectivamente), embora a velocidade de cisalhamento pulmonar e hepática tenha estabelecido uma correlação significativa ($p < 0,01$, $r = 0,26$).

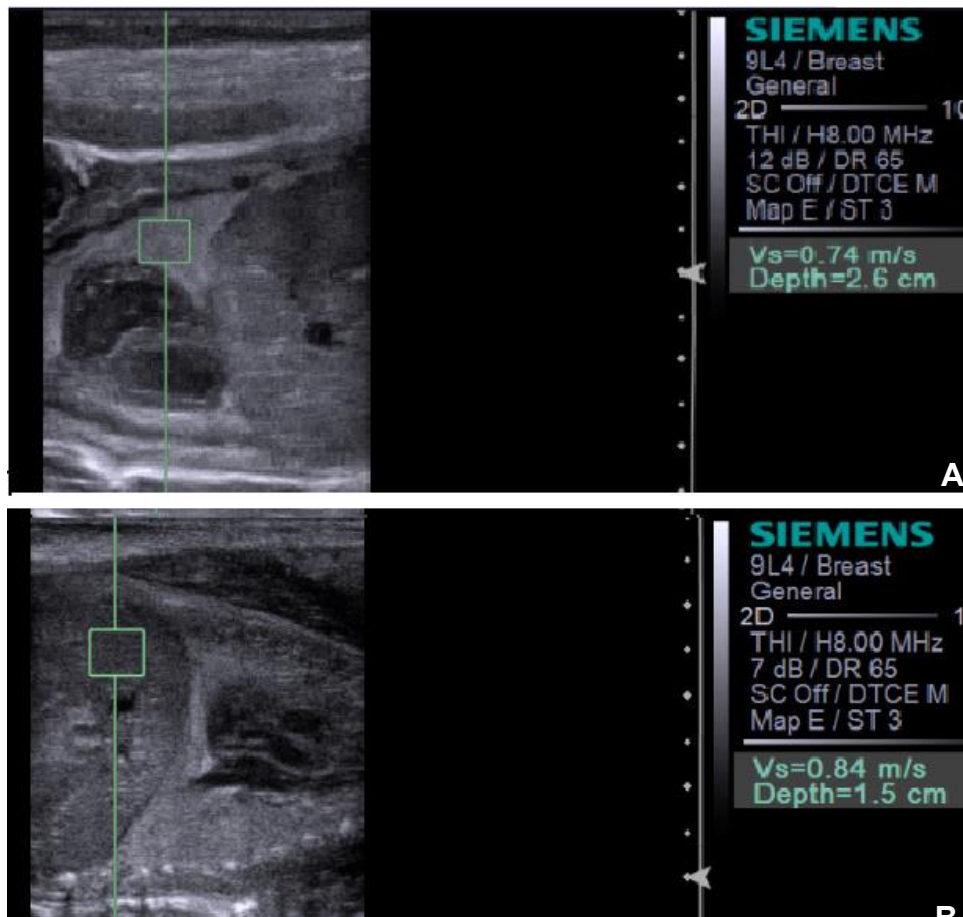


Figura 5: Imagem em secção longitudinal da elastografia quantitativa para avaliação do parênquima pulmonar (A) e hepático (B) de fetos caninos. Fonte (Arquivo Pessoal, 2015).

Tabela 6. Valores médios e desvio padrão (DS) da velocidade de cisalhamento (m/ s) do parênquima pulmonar e hepático de fetos caninos, em horas antes do parto (HAP).

Velocidade de cisalhamento (m/s)		
HAP (horas)	Pulmão	Fígado
-96	0,83 ± 0,08	0,95 ± 0,09
-84	0,82 ± 0,06	0,96 ± 0,11
-72	0,85 ± 0,09	0,94 ± 0,11
-60	0,86 ± 0,13	0,98 ± 0,13
-48	0,85 ± 0,09	0,99 ± 0,10
-36	0,86 ± 0,09	0,97 ± 0,08
-24	0,82 ± 0,10	1,02 ± 0,10
-12	0,83 ± 0,11	1,00 ± 0,11
0	0,86 ± 0,11	0,98 ± 0,14
Valor de p	0,69	0,32
Média ± DP	0,84 ± 0,11	0,98 ± 0,12
IC 95%	0,83 – 0,86	0,97 – 1,01

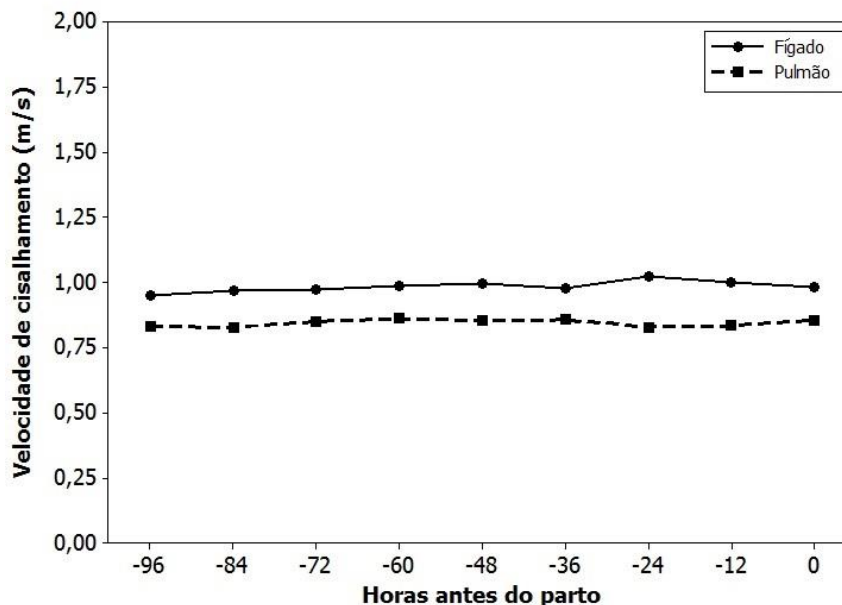


Figura 6: Ilustração gráfica da velocidade média de cisalhamento (m/s) do parênquima hepático e pulmonar dentro das -96 horas que precedem o parto na última semana de gestação das cadelas.

Discussão

A adequada maturação do tecido pulmonar fetal é um pré-requisito para a função respiratória normal em neonatos [22,23]. Nos seres humanos, o inadequado desenvolvimento pulmonar associado com nascimentos prematuros é a principal causa de morbidade pós-natal e mortalidade [24].

No período perinatal, o fígado fetal, tem que se adequar a um ambiente em rápida mudança metabólica [25]. Pouco antes do nascimento, há estímulo para desencadear a gliconeogênese, sendo que após o parto não há uma fonte maternal disponível.

Em obstetrícia veterinária, há poucos estudos sobre as características ecotexturais pulmonar e hepática em fetos caninos e não há relatos de diagnóstico pré-natal de anormalidades fetais e sua relação com a ocorrência de natimortos [26].

Assim, o presente estudo fornece ineditismo e informações aplicáveis sobre os atributos ultrassonográficos e elastográficos normais do tecido pulmonar e hepático em fetos caninos ao longo dos últimos quatro dias de

gestação, o que potencialmente, pode ser utilizado como um conjunto de valores de referência para avaliar o desenvolvimento final destes órgãos.

Com base nas observações clínicas em humanos, Prakash et al (2002) [4] sugeriram que a ultrassonografia pulmonar fetal, no período pré-natal pode auxiliar no estudo das alterações morfológicas e moleculares do tecido pulmonar.

Hipotetizamos que o uso de avaliações qualitativas e quantitativas da ecogenicidade e ecotextura pulmonar em fetos caninos poderia revelar um padrão de mudanças associadas com a maturação terminal dos pulmões.

Resultados de estudos anteriores de correlações quantitativas entre os atributos ecotexturais e composição química dos órgãos, indicaram que análise de imagem computadorizada ultrassonográfica pode ser útil na determinação de alterações bioquímicas, tais como o teor de proteína [27] e atividade enzimática [28]. O presente experimento também se propôs a examinar as mudanças perinatais em ecogenicidade hepática.

Primeiramente, as técnicas ultrassonográficas (modo B e elastografia) do parênquima pulmonar e hepático de fetos caninos, foram realizadas sem dificuldade e sem desconforto para as gestantes. A avaliação ultrassonográfica qualitativa pulmonar e hepática fetal canina, apresentaram resultados em completo acordo com os relatados por Sohn et. al (1995) [29] para fetos humanos. Uma diferença de ecogenicidade global entre os dois tecidos foi ainda confirmada pela diferença em valores de pixel numéricos determinados por análise de imagem computadorizada.

Nas cadelas do presente estudo, foi observado um declínio gradual na média dos valores de pixel numéricos do parênquima pulmonar entre 96 e 24 horas antes do parto, parecendo estar associado com um período de crescimento fetal intensivo, enquanto um aumento na intensidade de pixel no momento do início do parto (embora não significativa) coincidiu com a fase de desenvolvimento canalicular pulmonar, imediatamente antes do nascimento [30].

Atributos ultrassonográficos quantitativos pulmonar fetal podem ser importantes indicadores de alterações histológicas durante o período perinatal. No entanto, não há mudanças significativas na ecogenicidade e

heterogeneidade de pixel hepática vistas ao longo dos últimos quatro dias de gestação.

Em adição as alterações significativas na média, mínimo e máximo de valores de pixel dos pulmões de 96 a 24 horas antes do início do parto, ocorreram variações numéricas consistentes nestas variáveis, ou seja, uma diminuição transitória de 36 horas antes do nascimento e aumento gradual a partir de 24 horas pré-parto até a parturição.

É possível que a periodicidade dos exames atuais e as diferenças individuais no momento do parto nos cães do presente estudo, impossibilitaram a detecção de tendências estatisticamente significativas durante esses períodos de tempo. Não obstante, futuros estudos ultrassonográficos utilizando observações mais frequentes nas últimas 48 horas anteriores ao parto são necessários.

A técnica ARFI qualitativa e quantitativa produziu imagens reproduzíveis e medidas de velocidade de cisalhamento para os tecidos pulmonares dos conceptos caninos; portanto, outros operadores devem ser capazes de alcançar a mesma qualidade de imagem sem dificuldade. Os resultados obtidos com esta técnica, não revelaram quaisquer alterações significativas na rigidez pulmonar ou hepática durante os últimos dias de gestação. Pôde-se concluir que durante esta fase de desenvolvimento, a rigidez dos pulmões e fígado permanece relativamente constante como as alterações estruturais nos órgãos são mínimas [26].

No entanto, a aplicação da elastografia quantitativa confirmou que o tecido hepático possui maior rigidez em comparação ao tecido pulmonar (valores de velocidade de cisalhamento de $0,98 \pm 0,12$ "versus" $0,84 \pm 0,11$ m/s, respectivamente) e culminou na obtenção dos valores de referência para a velocidade de cisalhamento dos tecidos pulmonar e hepático fetal durante a última semana de gestação em cadelas.

Outra observação interessante no presente experimento foi a ausência de correlações entre atributos ecotexturais e elastográficos do pulmão e fígado fetal. Corroborando com estudos anteriores em cães adultos [15], onde não houve correlação entre parâmetros ecotexturais e velocidade de cisalhamento esplênico. Embora tenha sido sugerido que as alterações detectáveis, por meio da análise quantitativa de imagem ultrassonográfica, podem ser associadas

com as características físico-químicas do tecido [27], incluindo a sua rigidez e elasticidade, as observações não confirmaram este conceito.

Conclusão

A ultrassonografia modo B e a avaliação elastográfica pulmonar e hepática fetal, podem facilmente ser realizadas durante a última semana gestacional em cadelas e serem aplicadas como métodos não-invasivos para avaliar o desenvolvimento perinatal normal destes órgãos. Além disso, pode-se sugerir que os valores de referência obtidos a partir destas avaliações podem ser utilizados em obstetrícia veterinária bem como em estudos futuros destinados a avaliar a maturidade e / ou a anormalidade de tecidos pulmonares e hepáticos fetais em várias espécies de mamíferos.

O presente estudo requer investigações adicionais sobre as alterações nos atributos ecotexturais e histomorfológicos pulmonares fetais caninos, a partir de 48 horas pré-parto. Também seria justificado e interessante para determinar a relação temporal entre ecotextura pulmonar e a predição do momento do parto em cadelas.

Referências

- [1] Howson C, Kinney M, Lawn J. Born too soon: the global action report on preterm birth. London: WHO; 2010.
- [2] Martin J, Fanaroff A. The preterm lung and airway: past, present, and future. *Pediatr Neoatol* 2013;54:228-34.
- [3] Peralta L, Mourier E, Richard C, Charpigny G, Larcher T, Aït-Belkacem D, et al. In vivo evaluation of cervical stiffness evolution during induced ripening using shear wave elastography, histology and 2 photon excitation microscopy: insight from an animal model. *PLoS One* 2015;10:e0133377.
- [4] Prakash KNB, Ramakrishnan AG, Suresh S, Chow WP. Fetal lung maturity analysis using ultrasound image features. *IEEE Trans Inf Technol Biomed* 2002;6:38-45.
- [5] Moeglin D, Talmant C, Duyme M, Lopez AC. Fetal lung volumetry using two- and three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;25:119–27.
- [6] Feliciano MAR, Muzzi LAL, Leite CAL, Junqueira MA. Two-dimensional conventional, high resolution two-dimensional and three-dimensional ultrasonography in the evaluation of pregnant bitch. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2007;59:1333-7.
- [7] Miranda SA, Domingues SFS. Conceptus ecobiometry and triplex Doppler ultrasonography of uterine and umbilical arteries for assessment of fetal viability in dogs. *Theriogenology* 2010;74:608-17.
- [8] Feliciano MAR, Maciel GS, Coutinho LN, Almeida VT, Uscategui RR, Vicente WRR. Gestational echo biometry in brachycephalic pregnant bitches. *Ciênc Anim Bras* 2015;16:419-427.

- [9] Feliciano MAR, Nepomuceno AC, Crivelaro RM, Oliveira MEF, Coutinho LN, Vicente WRR. Foetal echoencephalography and Doppler ultrasonography of the middle cerebral artery in canine fetuses. *J Small Anim Pract* 2013;54:149-52.
- [10] Feliciano MAR, Cardilli DJ, Nepomuceno AC, Crivelaro RM, Silva MAM, Coutinho MEF, et al. Echobiometrics kidney and renal artery triplex doppler of canine fetuses. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2014;6:445-9.
- [11] Gil EMU, Garcia DAA, Giannico AT, Froes TR. Canine fetal heart rate: Do accelerations or decelerations predict the parturition day in bitches? *Theriogenology* 2014;82:933-41.
- [12] Gil EMU, Garcia DAA, Froes TR. In utero development of the fetal intestine: Sonographic evaluation and correlation with gestational age and fetal maturity in dogs. *Theriogenology* 2015;84:681-6.
- [13] Comstock C. Ultrasound elastography of breast lesions. *Ultrasound Clinics* 2011;6:407-15.
- [14] Feliciano MAR, Maronezi MC, Pavan L, Castanheira TL, Simões APR, Carvalho CF, et al. ARFI elastography as complementary diagnostic method of mammary neoplasm in female dogs – preliminary results. *J Small Anim Pract* 2014;55:504-8.
- [15] Maronezi MC, Feliciano MAR, Crivellenti LZ, Simões APR, Bartlewski PM, Gill I, et al. Acoustic radiation force impulse elastography of the spleen in healthy dogs of different ages. *J Small Anim Pract* 2015;56:393-7.
- [16] Holdsworth A, Bradley K, Birch S, Browne WJ, Barberet V. Elastography of the normal canine liver, spleen and kidneys. *Vet Radiol Ultrasound* 2014;55:620-7.

- [17] Feliciano MAR, Maronezi MC, Crivellenti LZ, Crivellenti SB, Simões APR, Brito MBS, et al. Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of the spleen in healthy adult cats – a preliminary study. *J Small Anim Pract* 2015;56:180-3.
- [18] Garcia PHS, Feliciano MAR, Carvalho CF, Crivellenti LZ, Maronezi MC, Almeida VT, et al. Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of kidneys in healthy adult cats: preliminary results. *J Small Anim Pract* 2015;56:505-9.
- [19] Feliciano MAR, Maronezi MC, Simões APR, Uscategui RR, Maciel GS, Carvalho CF, et al. Acoustic radiation force impulse elastography of prostate and testes of healthy dogs: preliminary results. *J Small Anim Pract* 2015;56:320-4.
- [20] Socha P, Rudowska M, Janowski T. Effectiveness of determining the parturition date in bitches using the ultrasonographic fetometry as compared to hormonal and cytological methods. *Pol J Vet Sci* 2012;15:447-53.
- [21] Souza FF, Martins, MIM. Inseminação Artificial em Cadelas. In: Aparício, M, Vicente, WRR, editores. *Reprodução e Obstetrícia em cães e gatos*. 1ed. São Paulo: MedVet; 2015;p.395-412.
- [22] Rebello CM, Diniz EMA. Surfactante pulmonar: composição, função e metabolismo. *Pediatria Moderna* 2000;36:12–6.
- [23] Vannucchi CI, Silva LCG, Lúcio CF, Regazzi FM, Veiga GAL, Angrimani DS. Prenatal and neonatal adaptations with a focus on the respiratory system. *Reprod Dom Anim* 2012;47:177–81.
- [24] Rades E, Bittar RE, Zugaib M. Determinantes diretos do parto prematuro eletivo e os resultados neonatais. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2004;26:655–62.

- [25] Tsanev R. Cell Cycle and Liver Function. In: Reinert J, Holtzer H, editors. Cell Cycle and Cell Differentiation; Results and Problems in Cell Differentiation, Berlin; J. Springer-Verlag Heidelberg GmbH, 1975;p.197-249.
- [26] Sipriani TM, Grandi F, Silva LCG, Maiorka PC, Vannucchi CI. Pulmonary maturation in canine foetuses from early pregnancy to parturition. *Reprod Domest Anim* 2009;44:137-40.
- [27] Ahmadi B, Mirshahi A, Giffin J, Oliveira MEF, Gao L, Hahnel A, et al. Preliminary assessment of the quantitative relationships between testicular tissue composition and ultrasonographic image attributes in the ram. *Vet J* 2013;198:282-5.
- [28] VanDuzer T, Duggavathi R, Murawski M, Zieba DA, Sroka P, Bartlewski PM. Correlations among antral follicular echotexture, apoptosis and expression of key steroidogenic enzymes in sheep. *J Reprod Develop* 2014;60:476-82.
- [29] Sohn C, Stolz W, Gast AS, Bastert G. Ultrasound diagnosis of fetal lung maturity. *Zentralbl Gynakol* 1995;117:138–43.
- [30] Lourenço MLG, Machado LHA. Characteristics of fetal-neonatal transition period and physiological particularities of the neonate canine and feline. *Rev Bras Reprod Anim* 2013;37:303-8.