

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 24/02/2019.

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

**ULTRASSONOGRAFIA MODO B E ELASTOGRAFIA  
ACOUSTIC RADIATION FORCE IMPULSE (ARFI) DE  
TECIDOS MATERNO FETAIS DURANTE A GESTAÇÃO EM  
OVINOS**

**Priscila Del Aguila da Silva  
Médica Veterinária**

**2017**

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

**ULTRASSONOGRAFIA MODO B E ELASTOGRAFIA  
ACOUSTIC RADIATION FORCE IMPULSE (ARFI) DE  
TECIDOS MATERNO FETAIS DURANTE A GESTAÇÃO EM  
OVINOS**

**Priscila Del Aguila da Silva**

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

**Coorientador: Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente**

**Coorientador: Dr. Ricardo Andres Ramirez Uscategui**

**Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,  
Câmpus de Jaboticabal, como parte das  
exigências para a obtenção do título de  
Mestre em Medicina Veterinária  
(Reprodução Animal)**

**2017**

S586u Silva, Priscila Del Aguila da  
Ultrassonografia modo b e elastografia acoustic radiation force  
impulse (arfi) de tecidos materno fetais durante a gestação em ovinos /  
Priscila Del Aguila da Silva. -- Jaboticabal, 2017  
iv, 33 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017  
Orientador: Marcus Antonio Rossi Feliciano  
Banca examinadora: Felipe Farias Pereira da Câmara Barros ,  
Eliandra Antonia Pires Buttler  
Bibliografia

1. Santa Inês. 2. Avaliação gestacional. 3. Maturidade fetal. I.  
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:618.1:636.3

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –  
Diretoria Técnica 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 ACOUSTIC RADIATION FORCE IMPULSE (ARFI) DE TECIDOS MATERNO FETAIS DURANTE A GESTAÇÃO EM OVINOS**


**AUTORA: PRISCILA DEL AGUILA DA SILVA**

**ORIENTADOR: MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO**

**COORIENTADOR: WILTER RICARDO RUSSIANO VICENTE**

**COORIENTADOR: RICARDO ANDRES RAMIREZ USCATEGUI**

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  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

  
Prof. Dr. FELIPE FARIAS PEREIRA DA CÂMARA BARROS  
Departamento de Ciência Animal / UNIFRAN - Franca/SP

  
Doutora ELIANDRA ANTONIA PIRES BUTTLER  
Médica Veterinária Autônoma / Jaboticabal / SP

Jaboticabal, 24 de fevereiro de 2017

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**PRISCILA DEL AGUILA DA SILVA** – filha de Marcos Rocha da Silva e Marizalda de Lima Del Aguila, nasceu em Rio Branco – Acre, no dia 1 de setembro de 1992. Em janeiro de 2015, formou-se como Médica Veterinária na Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará. Em março de 2015 ingressou na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista - Unesp, campus de Jaboticabal, no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (Reprodução Animal), sob a orientação do Prof. Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, que guiou meus passos até aqui, que me concedeu inúmeras bênçãos, sempre iluminando meu caminho e sendo misericordioso, dando forças para seguir em frente e me oferecendo as melhores oportunidades.

À minha mãe Marizalda Del Aguila, razão pela qual me mantive firme ao longo dessa caminhada. Por todo o seu amor e dedicação incondicionais, pelo companheirismo, por me apoiar nos momentos mais difíceis e por me proporcionar tantas alegrias, colocando minha felicidade muitas vezes em primeiro lugar, muito obrigada. Essa conquista não seria possível sem a senhora, dedico esse trabalho à senhora.

Ao meu pai Marcos Rocha, que mesmo com a distância sempre buscou meios de se fazer presente. Por pavimentar meu caminho até a universidade, por ser um pai amoroso e incentivador da minha carreira, muito obrigada.

Ao Prof. Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano, por me conduzir na pós-graduação e ter me acolhido em seu grupo. Por toda a paciência, pelos ensinamentos e oportunidades, e por estender a mão sempre que precisei. Por ser um orientador presente e ajudar em todos os aspectos do meu trabalho, ensinando passo a passo, sempre com uma piada pronta e um prazo a ser cumprido.

Ao Dr. Ricardo Uscategui, por ajudar em absolutamente tudo que precisei, fornecendo orientações valiosas e auxiliando desde a conduta clínica a ser tomada com os animais à escrita da dissertação. Por ser um grande incentivador, ainda que de um jeito peculiar, e por me amparar nos momentos de dificuldade. Sua ajuda e dedicação foram essenciais.

Ao Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente, por ter me dado a oportunidade de ingressar no mestrado ao ter me aceitado, por ser um grande mentor e fonte de inspiração, sempre sendo capaz de passar serenidade e palavras de sabedoria.

Aos amigos paraenses, Ana Cláudia, Eduarda Moutinho, Elaine Santos, Paulo Henrique, Victor Santos e Vívian Tavares, que me acolheram e se tornaram uma verdadeira família e um porto seguro nessa nova cidade.

Às amigas Jessica Lopes, Bryza Costa, Dandara Alves, Laís Moreira, Maíra Khoury e Thayna Novais, por me mostrarem o real valor das verdadeiras amizades e que estas não se perdem ao longo do tempo e apesar das distâncias.

À equipe da obstetrícia veterinária e reprodução (SORA), amigos que dispuseram de seu tempo, muitas vezes escasso, para que eu pudesse conduzir meu trabalho, ajudando sempre que necessário, especialmente Ana Paula Simões, Marjory Maronezi e Michelle Avante.

À 'equipe das ovelhas' Augusto Taira, Mariana Kako, Renata Sitta e Victor Santos. Conseguimos! Passamos por maus bocados juntos, quase moramos no aprisco, brigamos e fizemos as pazes diversas vezes, perdemos inúmeras noites de sono para ajudarmos uns aos outros. Olhando pra trás vejo que tudo valeu à pena. Vocês são muito especiais, esse trabalho é nosso, obrigada.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

Aos ilustríssimos membros das bancas do exame geral de qualificação e defesa: Dra. Eliandra Pires Buttler, Prof. Dr. Joaquim Mansano Garcia e Prof. Dr. Felipe Farias Pereira da Câmara Barros pela disponibilidade, importantes correções, direcionamentos e sugestões.



## SUMÁRIO

	<b>Pag.</b>
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	ii
RESUMO.....	iii
ABSTRACT .....	iv
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. Introdução.....	1
2. Revisão de Literatura.....	2
2.1 Fisiologia da gestação em ovelhas.....	2
2.2 Desenvolvimento e maturidade fetal.....	3
2.2.1 Pulmão .....	3
2.2.2 Fígado .....	5
2.2.3 Rins .....	5
2.2.4 Placentônios .....	5
2.3 Ultrassonografia gestacional em ovelhas .....	6
2.4 Elastografia Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) .....	8
3. Referências.....	12
CAPITULO 2 - ELASTOGRAFIA ACOUSTIC RADIATION FORCE IMPULSE (ARFI) DE TECIDOS MATERNO-FETAIS EM OVINOS GESTANTES.....	17
Resumo .....	17
Introdução.....	18
Métodos.....	19
Resultados.....	21
Discussão .....	22
Conclusão.....	25
Agradecimentos.....	25
Referências.....	25

## CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS




### CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

#### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "**Ultrassonografia modo B e elastografia ARFI pulmonar, hepática e renal no desenvolvimento fetal de ovinos**", protocolo nº 10.387/16, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 06 de julho de 2016.

Vigência do Projeto	01/08/2016 a 31/10/2016
Espécie / Linhagem	Ovino / Santa Inês
Nº de animais	20 animais
Peso / Idade	2-4 anos / 45-60kg
Sexo	Fêmeas
Origem	Propriedade na região de São Carlos

Jaboticabal, 06 de julho de 2016.

  
**Profª Drª Lizandra Amoroso**  
 Coordenadora – CEUA

## ULTRASSONOGRAFIA MODO B E ELASTOGRAFIA ACOUSTIC RADIATION FORCE IMPULSE (ARFI) DE TECIDOS MATERNO FETAIS DURANTE A GESTAÇÃO EM OVINOS

**RESUMO** – O objetivo deste estudo foi avaliar a rigidez de tecidos materno fetais em ovinos a partir da décima semana de gestação, por meio da elastografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse), determinando padrões qualitativos e quantitativos, com o intuito de verificar a aplicabilidade da técnica elastográfica no estudo do desenvolvimento desses tecidos. Foram avaliadas 24 ovelhas multíparas, com peso entre 40 e 60 quilos e idade entre 2 e 5 anos, da raça Santa Inês. Após a realização de exames prévios e verificada a higidez dos animais, estes foram submetidos a um protocolo de sincronização de estro seguido da monta natural. Quando confirmada a prenhez, foram submetidos aos exames ultrassonográfico convencional e elastografia (método ARFI quantitativo e qualitativo) do tecido pulmonar, hepático, renal e placentônios, com a utilização do aparelho ultrassonográfico ACUSON S2000/SIEMENS e softwares específicos. Os exames foram realizados semanalmente, a partir da décima semana gestacional (64 a 70 dias) até a semana da parição, sendo verificados os achados sonográficos destes tecidos, velocidade de cisalhamento (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 de todos os tecidos não se apresentou deformável, demonstrando imagem homogênea. À avaliação quantitativa, as velocidades de cisalhamento pulmonar (95% CI = 0.70 a 0.62 m/s) e hepática (95% IC = 0,79 a 0,96 m/s) variaram ao longo das semanas gestacionais ( $p < 0,001$ ), enquanto as velocidades renal (95% IC = 1,53 a 1,36 m/s) e do placentônio (95% IC = 2,34 a 2,28 m/s) não apresentaram diferença ( $p = 0,076$  e  $0,34$  respectivamente). A elastografia ARFI demonstrou ser uma técnica prática e segura para a avaliação do binômio materno-fetal, permitindo identificar os padrões de rigidez do placentônio, pulmão, fígado e rim fetais; apresentando correlação com o desenvolvimento gestacional das ovelhas por meio dos resultados da velocidade de cisalhamento dos tecidos pulmonares e hepáticos. Sugere-se que este método pode ser utilizado para estudos fisiológicos e patológicos na gestação de diversas espécies mamíferas.

**Palavras-chave:** Santa Inês, avaliação gestacional, maturidade fetal.

## **B-MODE ULTRASSONOGRAPHY AND ACOUSTIC RADIATION FORCE IMPULSE (ARFI) ELASTOGRAPHY OF MATERNAL-FETAL TISSUES DURING PREGNANCY IN OVINES**

**ABSTRACT** – The aim of this study was to evaluate the stiffness of maternal fetal tissues of ovines from the tenth week of gestation, using elastography ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse), with the purpose of verifying the applicability of the elastographic technique in the study of the development of these tissues throughout the gestational period. Twenty - four multiparous ewes, weighing between 40 and 60 kilos and age between 2 and 5 years, of the Santa Inês breed were evaluated. After conducting preliminary exams and checked the healthiness of the animals, these were submitted to an estrus synchronization protocol and natural mating. When the pregnancy was confirmed, they were submitted to the conventional ultrasound examinations and elastography (quantitative and qualitative method ARFI) with the use of the ultrasound equipment ACUSON S2000 / SIEMENS and specific software. The exams were performed weekly, from the 10th gestational week (64 to 70 days) until the week of parturition and the shear wave velocity (quantitative elastographic evaluation) and stiffness characteristics were verified (Qualitative elastographic evaluation). The experimental lineation was completely randomized and used 5% significance level for all tests. The animals did not present any clinical and obstetric alterations during pregnancy and birth. The newborns presented themselves healthy and normal. ARFI elastography was performed consistently and without any difficulty. Qualitative elastography did not appear deformable, demonstrating homogeneous image. For quantitative evaluation, pulmonary (95% CI = 0.70 to 0.62 m/s) and hepatic (95% CI = 0.79 to 0.96 m/s) shear waves velocities varied over the gestational weeks ( $P < 0.001$ ), whereas renal (95% CI = 1.53 a 1.36 m/s) and placentomes velocities (95% CI = 2.34 to 2.28 m/s) did not present difference ( $p = 0.076$  and  $0.34$  respectively). ARFI-elastography has shown to be an applicable and safe technique for placentomes, pulmonary, renal and hepatic fetal tissues stiffness evaluation in ovine experimental model. Enabled qualitative and quantitative tissues elastographic characterization, and allowed to detect pulmonary and hepatic stiffness modifications related with fetal development and gestational age. We suggest that these results could be used as reference for pregnancy pathophysiological studies in ovine and extrapolated for gestational researches in other mammal species.

**Keywords:** Santa Inês, gestational evaluation, fetal maturation.

## **CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais**

### **1. Introdução**

O diagnóstico intrauterino da maturação fetal e avaliação do desenvolvimento das estruturas materno-fetais são essenciais na tentativa de instituir meios para detecção de intercorrências durante a gestação nos animais, estabelecendo terapias pré-natais que aumentem as chances de sobrevivência fetal (CANELLO et al., 2015).

Dada a importância do acompanhamento gestacional, em medicina avalia-se a maturidade pulmonar de indivíduos via exames ultrassonográficos, por meio do estudo da ecotextura de tecidos fetais (PRAKASH et al., 2002) e diagnóstico de doenças pulmonares fetais (MOEGLIN et al., 2005). Especificamente em ovinos, devido à impossibilidade de palpação retal, a ultrassonografia fornece informações diagnósticas e de acompanhamento obstétrico importantes (OLIVEIRA et al., 2014).

Entre as novas técnicas ultrassonográficas, a elastografia começou a ser desenvolvida cerca de 20 anos atrás, apresentando como principal objetivo verificar a “dureza” tecidual, o que fornece uma informação adicional e clinicamente relevante na avaliação dos diferentes tecidos em humanos e animais (GENNISSON et al., 2013). Consiste em uma avaliação da elasticidade dos tecidos, permitindo uma espécie de “palpação virtual” (QUARELLO et al., 2016; FINK, 2013).

O uso da técnica elastográfica na avaliação tecidual de conceptos ovinos ainda não fora descrito em medicina veterinária. Neste contexto, surge a necessidade de se desenvolver estudos sobre reprodutibilidade, confiabilidade e qualidade efetiva dos resultados dessa técnica para avaliação gestacional dos animais de produção, avaliando metodologias de realização do exame e implementando o método na prática obstétrica em diversas espécies.

Espera-se que a avaliação elastográfica das estruturas materno-fetais de ovelhas gestantes possa contribuir para o estudo do desenvolvimento dos conceptos, avaliação da maturidade gestacional e predição de um momento ideal de parto para os animais. Especificamente, buscamos padronizar a técnica elastográfica qualitativa e quantitativa na avaliação do parênquima

pulmonar, hepático, rins fetais e placentônio de ovinos, determinando características de rigidez e valores de referência para velocidade de cisalhamento desses tecidos.

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

224

## CONCLUSÃO

225

226

227

228

229

230

231

## AGRADECIMENTOS

232

233

234

235

## REFERÊNCIAS

236

237

A elastografia ARFI demonstrou-se aplicável e segura na avaliação gestacional em ovelhas, permitindo identificar as características quali-quantitativas da rigidez dos placentônios, pulmão, fígado e rim fetais, assim como, demonstrar mudanças na elasticidade dos tecidos pulmonar e hepático relacionadas com o desenvolvimento tecidual e idade gestacional. Sugerimos que estes valores possam ser usados como referencia para estudos fisiológicos e patológicos em diversas espécies de mamíferos.

Agradecemos à FAPESP pelo auxílio pesquisa Jovem Pesquisador e bolsa Jovem Pesquisador concedidos (processos 2012/16635-2; 2014/15117-3 e 2013/06443-1) e ao CNPQ pela bolsa de mestrado concedida.

1. Ophir J, Cespedes I, Ponnekanti H, Yazdi Y, Li X. Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. *Ultrason imaging* 199; **13** : 111-134.

- 238 2. Quarello E, Lacoste R, Mancini J, Melot—Dusseaud S, Gorincour G. ShearWave  
239 elastography of fetal lungs in pregnant baboons. *Diagn Interv Imaging* 2016; **97** : 605-610.
- 240 3. Fink M. Elastography: a new modality of ultrasound imaging. *Diagn Interv Imaging* 2013;  
241 **94** : 485.
- 242 4. Feliciano MAR, Maronezi MC, Pavan L, Castanheira TL, Simões APR, Carvalho CF,  
243 Canola JC, Vicente WRR. ARFI elastography as complementary diagnostic method of  
244 mammary neoplasm in female dogs – preliminary results. *J Small Anim Pract* 2014; **55**:  
245 504–508.
- 246 5. Feliciano MAR, Maronezi MC, Simões APR, Maciel GS, Pavan L, Gasser B, Silva P,  
247 Uscategui RR, Carvalho CF, Canola JC, Vicente WRR. Acoustic radiation force impulse  
248 (ARFI) elastography of testicular disorders in dogs: preliminary results. *Arq Bras Med Vet*  
249 *Zootec* 2016; **68** : 283-291.
- 250 6. Holdsworth A, Bradley K, Birch S, Browne WJ, Barberet V. Elastography of the normal  
251 canine liver, spleen and kidneys. *Vet Radiol Ultrasound* 2014; **55** : 620-662.
- 252 7. Feliciano MAR, Maronezi MC, Simões APR, Uscategui RR, Maciel GS, Carvalho CF,  
253 Canola JC, Vicente WRR. Acoustic radiation force impulse elastography of prostate and  
254 testes of healthy dogs: preliminary results. *J Small Anim Pract* 2015; **56** : 320-324.
- 255 8. Maronezi MC, Feliciano MAR, Crivellenti LZ, Simões APR, Bartlewski PM, Gill I,  
256 Canola JC, Vicente WRR. Acoustic radiation force impulse elastography of the spleen in  
257 healthy dogs of different ages. *J Small Anim Pract*, 2015; **56** : 393-397.
- 258 9. Feliciano MAR, Maronezi MC, Crivellenti LZ, Crivellenti SB, Simões APR, Brito MBS,  
259 Garcia PHS, Vicente WRR. Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of the  
260 spleen in healthy adult cats – a preliminary study. *J Small Anim Pract* 2014; **56** : 180-183.



- 261 10. Hernandez-Andrade E, Hassan SS, Ahn H et al. Evaluation of cervical stiffness during  
262 pregnancy using semiquantitative ultrasound elastography. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;  
263 **41** : 152–161
- 264 11. Hwang HS, Sohn IS, Kwon HS. Imaging analysis of cervical elastography for prediction  
265 of successful induction of labor at term. *J Ultrasound Med* 2013; **32** : 937–946.
- 266 12. Peralta L, Mourier E, Richard C, Charpign G, Larcher T, Aït-Belkacem D, Balla NK,  
267 Brasselet S, Tanter M, Muller M, Chavatte-Palmer P. In vivo evaluation of cervical stiffness  
268 evolution during induced ripening using shear wave elastography, histology and 2 photon  
269 excitation microscopy: insight from an animal mode. *PLoS One* 2015; **10** : 101-21.
- 270 13. Zheng XZ, Wu J, Tan XY. A novel approach to assessing fetal tissue stiffness using  
271 virtual touch tissue quantification. *Med Ultrason* 2016; **18** : 70-74.
- 272 14. Aissi A, Alloui N, Slimani C, Touri S. Preliminary study of the early ultrasonic diagnosis  
273 of pregnancy and fetal development in the dog. *J Anim Vet Adv* 2008; **7** : 607-611.
- 274 15. Viñoles-Gil C, Gonzalez-Bulnes A, Martin GB, Zlatar FS, Sale S. Sheep and Goats. In  
275 *Practical Atlas of Ruminant and Camelid Reproductive Ultrasonography*, Descôteaux L,  
276 Gnemmi G, Colloton J (eds). Willey-Blackwell: Iowa, 2010; 181-196.
- 277 16. Syversveen T, Brabrand K, Midtvedt K, Strom EH, Hartmann A, Jakobsen JA, Berstad  
278 AE. Assessment of renal allograft fibrosis by acoustic radiation force impulse quantification  
279 – a pilot study. *Transpl Int* 2011; **24** : 100-105.
- 280 17. Fierbinteanu-Braticевичi C, Andronescu D, Usvat R, Cretoiu D, Baicus C, Marinoschi G.  
281 Acoustic radiation force imaging sonoelastography for noninvasive staging of liver fibrosis.  
282 *World J Gastroenterol* 2009; **15** : 5525-5532.
- 283 18. Corrin B. The structure of the normal lungs. In *Pathology of the Lungs*, Churchill  
284 Livingstone: London, 2010; 1-34.

- 285 19. Mcllin VA, Zorn AM. Molecular control of liver development. *Clin Liver Dis* 2006; **10** :  
286 11-25.
- 287 20. Drozdowska J, Cousens C, Finlayson J, Collie D, Dagleish MP. Structural Development,  
288 Cellular Differentiation and Proliferation of the Respiratory Epithelium in the Bovine Fetal  
289 Lung. *J Comp Path* 2016; **154** : 42-56.
- 290 21. Björkman N. Morphological and histochemical studies on the bovine placenta. *Acta*  
291 *Anatomica Suppl* 1954; **22** : 1-91.
- 292 22. Marin WB. Respiratory infections of sheep. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1996;  
293 **19** : 171-179.
- 294 23. Johnson CA. High-risk pregnancy and hypoluteoidism in the bitch. *Theriogenology* 2008;  
295 **70** : 1424–1430.
- 296 24. Martin J, Fanaroff A. The preterm lung and airway: past, present, and future. *Pediatr*  
297 *Neonatol* 2013; **54** : 228–234.
- 298 25. Prakash KNB, Ramakrishnan AG, Suresh S, Chow WP. Fetal lung maturity analysis  
299 using ultrasound image features. *IEEE Trans Inf Technol Biomed* 2002; **6** : 38–45.
- 300 26. Varner S, Sherman G, Lewis D, Owens S, Bodie F, McCathran CE, Holliday N.  
301 Amniocentesis for Fetal Lung Maturity: Will It Become Obsolete? *Rev Obstet Gynecol*. 2013;  
302 **6** : 126-134.
- 303 27. Podobnik M, Brayer B, Ciglar S, Duić Z, Podgajski M. Ultrasonic fetal and placental  
304 tissue characterization and lung maturity. *Int J Gynaecol Obstet* 1996; **54** : 221-229.
- 305 28. Kim SM, Park JS, Norwitz ER, Hwang EJ, Kang HS, Park CW, Jun JK. Acceleration  
306 time-to-ejection time ratio in fetal pulmonary artery predicts the development of neonatal  
307 respiratory distress syndrome: a prospective cohort study. *Am J Perinatal* 2013; **30** : 805-812.
- 308 29. Scheerlinck JP, Snibson KJ, Bowles VM, Sutton P. Biomedical applications of sheep  
309 models: from asthma to vaccines. *Trends Biotechnol* 2008; **26** : 259–266

- 310 30. Martineau HM, Dagleish MP, Cousens C, Underwood C, Forbes V, Palmarini M,  
311 Griffiths DJ. Cellular differentiation and proliferation in the ovine lung during gestation and  
312 early postnatal development 2013; *J Comp Path*, **149** : 255-267.
- 313 31. Hooper SB, Harding R. Fetal lung liquid: A major determinant of the growth and  
314 functional development of the fetal lung. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995; **22** : 235-247.
- 315 32. Harding R, Hooper SB. Regulation of lung expansion and lung growth before birth. *J*  
316 *Appl Physiol* 1996; **81** : 209-224.
- 317 33. Alcorn DG, Adamson TM, Maloney JE, Robinson PM. A morphologic and morphometric  
318 analysis of fetal lung development in the sheep. *Anat Rec* 1981; **201** : 655–667.
- 319 34. Burri PH. Structural aspects of postnatal lung development – alveolar formation and  
320 growth. *Biol Neonate* 2006; **89** : 313–322.
- 321 35. Hassan GMA, Sliem HA, Ellethy AT. Hepatic Embryonic Development and Anomalies  
322 of the Liver. *Journal of Gastroenterology and Hepatology Research* 2013; **2** : 489-493.
- 323 36. Jacobsson B, Ahlin K, Francis A, Hagberg G, Hagberg H, Gardosi J. Cerebral palsy and  
324 restricted growth status at birth: population-based case-control study. *BJOG* 2008; **115** :  
325 1250–1255.
- 326 37. Champion V, Carbajal R, Lozar J, Girard I, Mitanchez D. Risk factors for developing  
327 transient neonatal cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; **55** : 592–598.
- 328 38. Jacquemin E, Lykavieris P, Chaoui N, Hadchouel M, Bernard O. Transient neonatal  
329 cholestasis: origin and outcome. *J Pediatr* 1998; **133** : 563–567.
- 330 39. Alison M, Biran V, Tanase A, Bendavid M, Blouet M, Demené C, Sebagl G, Tanter M,  
331 Baud O. Quantitative Shear-Wave Elastography of the Liver in Preterm Neonates with Intra-  
332 Uterine Growth Restriction. *PLoS One* 2015; **10** : 1-14.
- 333 40. Zaret KS. Regulatory phases of early liver development: paradigms of organogenesis. *Nat*  
334 *Rev Genet* 2002; **3** : 499-512.

- 335 41. Zhao R, Duncan SA. Embryonic Development of the Liver. *Hepatology* 2005; **41** : 956-  
336 967.
- 337 42. Quarello E, Lacoste R, Mancini J, Melot-Dusseau S, Gorincour G. Shear waves  
338 elastography of the placenta in pregnant baboon. *Gynecol Obstet Fertil* 2015; **43** : 200-204.
- 339 43. Alan B, Tunç S, Agacayak E, Bilici A. Diagnosis of pre-eclampsia and assessment of  
340 severity through examination of the placenta with acoustic radiation force impulse  
341 elastography. *J Gynaecol Obstet* 2016; **135** : 43-46.