

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 01/03/2021.

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

**AVALIAÇÃO DA PERFUSÃO RENAL DE CADELAS EM
SEPSE POR PIOMETRA POR MEIO DA
ULTRASSONOGRAFIA COM CONTRASTE POR
MICROBOLHAS E DOPPLER**

**Beatriz Gasser
Médica Veterinária**

2019

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

**AVALIAÇÃO DA PERFUSÃO RENAL DE CADELAS EM
SEPSE POR PIOMETRA POR MEIO DA
ULTRASSONOGRAFIA COM CONTRASTE POR
MICROBOLHAS E DOPPLER**

Beatriz Gasser

Orientador: Prof. Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano

Coorientador: Prof. 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**

2019

G251a Gasser, Beatriz
Avaliação da perfusão renal de cadelas em sepse por piometra por meio da ultrassonografia com contraste por microbolhas e Doppler / Beatriz Gasser. -- Jaboticabal, 2019
45 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Marcus Antônio Rossi Feliciano
Coorientador: Ricardo Andres Ramirez Uscategui

1. Cães. 2. Ultrassonografia veterinária. 3. Insuficiência renal aguda. 4. Ultrassonografia Doppler. 5. Meios de contraste (Diagnóstico por imagem). I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Beatriz Gasser, nascida em Campinas (SP), 07 de janeiro de 1991. Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, câmpus de Jaboticabal (2010 - 2014). Especialista Lato Sensu na Modalidade Residência no Programa de Medicina Veterinária e Saúde pelo MEC/SUS, na área de Reprodução Animal e Obstetrícia Veterinária da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", UNESP/Jaboticabal (2015 - 2016). Atualmente, é mestranda do programa de Medicina Veterinária, na área de Ultrassonografia e Reprodução Animal pela mesma instituição, atuando na linha de pesquisa novas técnicas ultrassonográficas para avaliação de disfunções orgânicas oriundas da sepse, sob orientação do Prof. Dr. Marcus Feliciano e coorientação do Prof. Dr. Ricardo Andres Ramirez Uscategui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família que investiu tantos anos em meus estudos, permitindo que eu chegasse onde estou agora.

Aos proprietários e pacientes pela confiança e colaboração, tornando este trabalho possível. Aos animais com os quais convivi, tanto na minha vida pessoal como profissional, desde a graduação e residência. Agradeço àqueles que foram tratados, mas especialmente àqueles que perdi, permitindo que eu aprendesse mais para salvar tantos outros.

Agradeço meu orientador Marcus Feliciano pelas oportunidades, ensinamentos e confiança e meu coorientador Ricardo Uscategui por aguentar minhas crises, incentivar e ensinar tanto sobre tratamento de pacientes críticos e anestesiologia, despertando meu interesse nestas áreas. Ao meu namorado Diego por me apoiar, ajudar e estar presente em todos os momentos. Aos meus amigos que conviveram comigo nestes dois anos de mestrado, principalmente Marjury, Ana, Letícia e Priscila que muitas vezes ficaram até tarde comigo, ajudando com as coletas, a Fernanda pelas análises, as residentes Nathalia, Marina, Samara e Amanda pela ajuda e paciência durante as coletas. Ao professor Leandro Crivellenti pela colaboração com os exames.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

	Página
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xii
CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais	13
1. Introdução	13
2. Revisão de Literatura	15
2.1 Sepse.....	15
2.2 Lesão renal aguda na sepse.....	16
2.3 Ultrassonografia renal.....	17
3. Referências.....	19
CAPÍTULO 2 – Variáveis clinicopatológicas e ultrassonográficas para o diagnóstico de lesão renal aguda em cadelas com piometra e sepse.	22
Resumo.....	22
Abstract.....	22
Introdução	23
Material e Métodos.....	24
<i>Aspectos éticos e animais</i>	25
<i>Exames físico e laboratorial</i>	25
<i>Ultrassonografia modo-B</i>	27
<i>Doppler</i>	27
<i>Ultrassonografia contrastada por microbolhas</i>	28
<i>Análise estatística</i>	30
Resultados	30

Discussão37
Referências.....41

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS




CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “**Avaliação da perfusão renal de cadelas em sepse por piometra por meio da ultrassonografia com contraste por microbolhas e Doppler**”, protocolo nº 006670/17, 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 de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 04 de maio de 2017.

Vigência do Projeto	11/05/2017 a 11/11/2018
Espécie / Linhagem	<i>Canis familiaris</i>
Nº de animais	32 cadelas com sepse por piometra e 10 cadelas saudáveis
Peso / Idade	Adultos e idosos, pesos variados
Sexo	Fêmeas
Origem	Animais trazidos para consulta no setor de Obstetrícia Veterinária

Jaboticabal, 04 de maio de 2017.


Profª Drª Lizandra Amoroso
 Coordenadora – CEUA

AVALIAÇÃO DA PERFUSÃO RENAL DE CADELAS EM SEPSE POR PIOMETRA POR MEIO DA ULTRASSONOGRAFIA COM CONTRASTE POR MICROBOLHAS E DOPPLER

RESUMO – A sepse é uma síndrome clínica que ocasiona alta morbimortalidade em humanos e animais, devido à disfunção orgânica a qual conduz, sendo a principal complicação a lesão renal aguda (LRA), originada por alteração da perfusão dentre outros fatores. No entanto, até o presente momento as técnicas utilizadas para o diagnóstico precoce de alterações na perfusão renal são pouco acuradas, invasivas ou de alto risco para o paciente. Por tal motivo, este estudo clínico avaliou parâmetros clínicos, hematológicos, urinários, de ultrassonografia Modo-B, Doppler espectral e contrastada por microbolhas (CEUS), utilizando o exame histopatológico da biopsia renal como padrão diagnóstico de LRA, em 20 cadelas com piometra de origem natural como modelo experimental de sepse. Objetivou-se identificar alterações patofisiológicas que expliquem o desenvolvimento da LRA e sepse neste tipo de pacientes e verificar a acurácia dos métodos estudados para o diagnóstico desta lesão, utilizando um grupo de 12 pacientes saudáveis como controle. Todas as pacientes apresentaram algum grau de lesão renal de diversas origens celulares e 40% apresentaram-se em sepse. A LRA pôde ser explicada em 57% dos casos por alteração da hemodinâmica renal, principalmente redução da magnitude e velocidade do fluxo sanguíneo renal avaliados pelo Doppler e da perfusão cortical pela CEUS; e em 22% dos casos por alterações inflamatórias sistêmicas, associadas à redução da concentração plasmática de albumina e aumento das globulinas. Os parâmetros que apresentaram melhor valor diagnóstico para LRA (acurácia > 80%) foram: razão proteína-creatinina urinária (UPC), albumina sérica, tempo médio de velocidade na artéria renal (TaMin), índice de pulsatilidade (IP), relação comprimento renal-aorta (RelCompAor) e pico de realce do contraste no córtex renal. A sepse e as alterações na albumina, PaO₂, TaMin, hematócrito, UPC, RelCompAor, fosfatase alcalina e IP, associaram-se a degeneração tubular, infiltração inflamatória, necrose tubular aguda, fibrose intersticial, glomerulonefrite membranoproliferativa e glomerulonefrite membranosa, mais severas, sendo estas as lesões renais encontradas na análise histopatológica. Além disso, sugere-se a utilização da UPC ao invés da creatinina como método de avaliação renal no escore SOFA para determinação de sepse em cães.

Palavras-chave: canino, hemodinâmica renal, lesão renal, disfunção orgânica, infecção, útero.

EVALUATION OF RENAL PERFUSION OF BITCHES IN SEPSIS BY PYOMETRA BY CONTRAST ENHANCED ULTRASONOGRAPHY AND DOPPLER

ABSTRACT – Sepsis is a clinical syndrome that causes high morbidity and mortality in humans and animals, due to the organic dysfunction it leads to. The main complication is acute kidney injury (AKI), caused by changes in perfusion, among other factors. Unfortunately, to date the techniques used for the early diagnosis of changes in renal perfusion are not accurate, invasive or at high risk for the patient. Therefore, this clinical study evaluated clinical, hematological, urinary and ultrasonographic B-mode, spectral Doppler and microbubble contrast (CEUS) techniques, using histopathological exam of renal biopsy as the diagnostic standard of AKI in 20 bitches with pyometra of natural causes as an experimental model of sepsis. The aim was to identify pathophysiological changes that explain the development of AKI and sepsis in this kind of patients and to verify the accuracy of the methods studied for the diagnosis of this lesion, using a group of 12 healthy control patients. All animals with pyometra presented some degree of renal damage from multiple cellular origins and 40% presented with sepsis. The LRA could be explained in 57% of cases due to renal hemodynamics changes, mainly reduction of renal blood flow magnitude and velocity evaluated by Doppler ultrasonography and cortical perfusion evaluated by CEUS; and in 22% of cases due to systemic inflammatory alterations, associated to reduction of plasmatic concentration of albumin and increase of globulins. The parameters that presented the best diagnostic value for AKI (accuracy > 80%) were: urinary protein-creatinine ratio (UPC), serum albumin, mean renal artery velocity (TaMin), pulsatility index (PI), kidney length/aorta ratio (KLAorR) and peak contrast enhancement in the renal cortex. Sepsis and alterations in albumin, PaO₂, TaMin, hematocrit, UPC, KLAorR, alkaline phosphatase and PI were associated with aggravation of tubular degeneration, inflammatory infiltration, acute tubular necrosis, interstitial fibrosis, membranoproliferative glomerulonephritis and membranous glomerulonephritis, these being the renal lesions found in the histopathological analysis. In addition, we suggest the use of UPC instead of creatinine as a renal evaluation in the SOFA score for determination of sepsis in dogs.

Keywords: canine, renal hemodynamic, renal injury, organic dysfunction, infection, uterus

LISTA DE FIGURAS

	Página
<p>Figura 1. Ilustração da função que representa a curva de tempo-intensidade do estudo de contraste ultrassonográfico renal (TIC) após a aplicação do contraste ultrassonográfico (0). Parâmetros: pico de intensidade (PI em pixel), tempo para o pico de intensidade (Tp em s), tempo médio de transmissão (TmT em s), área sob a curva (AUC), inclinação da curva de entrada (a em Pixels/s), e da curva de saída (b em Pixels/s).....</p>	29
<p>Figura 2. Representação gráfica da análise de componentes principais envolvidos no desenvolvimento de LRA secundária a piometra/sepse em cadelas.</p>	33
<p>Figura 3. Representação gráfica da análise de correlação de Spearman entre os parâmetros clínicos, laboratoriais e ultrassonográficos avaliados e o grau de alteração histopatológica renal em cadelas com LRA secundária a piometra/sepse.....</p>	34
<p>Figura 4. Curvas ROC (<i>Receiving operating Characteristic</i>) comparando a sensibilidade e especificidade diagnósticas dos diferentes parâmetros clínicos laboratoriais e ultrassonográficos estudados na identificação de LRA em cadelas secundaria a piometra/sepse.</p>	36

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Escore SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) adaptado à espécie canina (Ripanti et al., 2012).....	15
Tabela 2. Média ± DP de parâmetros fisiológicos, hematológicos e urinários em cadelas saudáveis e com LRA secundária a piometra/sepse.	31
Tabela 3. Média ± DP dos parâmetros avaliados no rim esquerdo por diferentes métodos ultrassonográficos (Modo-B, Doppler e CEUS) em cadelas saudáveis e acometidas por LRA secundária a piometra/sepse.	32
Tabela 4. Variáveis de desempenho diagnóstico (%) de diferentes parâmetros ultrassonográficos, clínicos e laboratoriais para predizer a LRA em cadelas afetadas por piometra/sepse.....	34
Tabela 5. Média ± DP de parâmetros fisiológicos, hematológicos, urinários e ultrassonográficos significativamente diferentes ($p < 0,1$) em cadelas com e sem sepse secundária à piometra.	36

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. Introdução

A sepse é atualmente definida como disfunção orgânica potencialmente fatal causada por uma resposta imune desregulada a uma infecção, condição clínica que gera alta morbimortalidade em humanos e animais. Um estudo realizado pelo Colégio Americano de Emergência e Cuidado Crítico Veterinário (ACVECC) estimou a incidência desta síndrome por volta de 6 a 10% na espécie canina e a taxa de sobrevivência entre 25 e 50% (Otto, 2007). Esta condição clínica ocasiona complicações decorrentes principalmente de má perfusão tecidual e pode conduzir ao desenvolvimento da síndrome de disfunção multiorgânica (MODS) que afeta aproximadamente 50% dos cães com sepse e aumenta a taxa de mortalidade de 25% para 70% (Kenney et al., 2010).

Dentre as complicações decorrentes da sepse, se destaca a lesão renal aguda (LRA), todavia sua fisiopatologia não está completamente elucidada. Existe forte evidência para inferir que seja desencadeada por alterações da perfusão sanguínea renal (Langenberg et al., 2005), no entanto a maioria dos estudos em modelos experimentais animais baseiam-se apenas na medição do fluxo sanguíneo renal e este parâmetro não explica fidedignamente o porquê ocorre a lesão (Zarjou e Agarwal, 2011); sugere-se que provavelmente deve-se à natureza complexa da vascularização renal (Schneider et al., 2013). Em alguns casos tem se descrito que a sepse pode estar associada a aumento do fluxo sanguíneo renal e mesmo assim promover a lesão deste sistema (Langenberg et al., 2005). Tais fatos servem como evidência experimental para afirmar que a LRA em pacientes com sepse pode ser causada por alterações do fluxo sanguíneo, da perfusão intra-renal ou mesmo pela associação de outros fatores como a inflamação (Schneider et al., 2013; O'Connor e Evans, 2010).

Neste contexto, a piometra é uma doença desencadeada por infecção bacteriana no útero e de altíssima incidência natural (cerca de 50% em animais > 10 anos) em cadelas intactas (Hagman, 2004). É a principal causa de sepse na espécie canina e estima-se que cerca de seis de cada dez animais confirmados com esta

doença desenvolvem sepse (Karlsson et al., 2012). Cabe ressaltar que esta enfermidade é também desencadeadora de LRA, como consequência de estimulação exacerbada do sistema imunológico, ocasionando a formação de imunocomplexos circulantes que se precipitam nos glomérulos e que resultam em afecções transitórias glomerulares e/ou tubulares (Maddens et al., 2010).

Integralizando estas informações, a lesão renal aguda (LRA) é considerada a mais frequente e letal das complicações orgânicas tanto da sepse como da piometra. Na sepse, esta lesão ocorre em 30 a 50% das pessoas acometidas (Langenberg et al., 2005; Schneider et al., 2013) e em 12% dos cães, dos quais apenas 14% sobrevivem (Kenney et al., 2010; Keir e Kellum, 2015). Deste modo, considera-se que o diagnóstico precoce de LRA em pacientes acometidos por infecções bacterianas severas que possam conduzir à sepse permitirá melhorar a taxa de sobrevivência dos pacientes, ao fornecer suporte para uma terapia mais rápida e um prognóstico clínico mais adequado. No entanto, as ferramentas necessárias para detectar esta complicação não estão amplamente disponíveis e sua aplicação clínica é bastante limitada, tanto na medicina, quanto na veterinária (Keir e Kellum, 2015).

É nesse cenário que a avaliação da perfusão renal por meio da ultrassonografia contrastada por microbolhas (CEUS) associada ao Doppler surge como técnica diagnóstica promissora para o estudo da perfusão renal, uma vez que permite detectar alterações da vascularização e microcirculação, que por outros métodos seriam imperceptíveis, e ainda de forma não invasiva e segura (Santos et al., 2013; Schneider et al., 2013). Embora esta técnica ainda se encontre em fase experimental, estudos preliminares na espécie canina já indicaram sua acurácia na avaliação da perfusão renal (Wei et al., 2001; Waller et al., 2007; Dong et al., 2013), inclusive como indicador precoce de lesão renal isquêmica (Dong et al., 2013). Especificamente na sepse, um modelo experimental em porcos identificou recentemente que a CEUS permite detectar alterações hemodinâmicas renais decorrentes da sepse e sua melhora após ressuscitação volêmica, resultados que acompanharam a microcirculação sublingual avaliada por fluoroscopia, considerada padrão ouro para avaliação da microcirculação (Lima et al., 2018).

Com estes preceitos, considera-se que técnicas que permitam o estudo da microcirculação e/ou perfusão renal em pacientes acometidos por infecções

bacterianas podem, não só auxiliar no diagnóstico precoce da LRA, como também no entendimento da fisiopatologia desta lesão. Com isso, o objetivo deste estudo foi definir as alterações hemodinâmicas, inflamatórias ou de diversas origens que conduzem à LRA em pacientes com piometra/sepse e seu diagnóstico precoce foi realizada esta revisão de literatura.

3. Referências

Dong Y, Wang W, Cao J, Fan P, Lin X (2013) Quantitative Evaluation of Contrast-Enhanced Ultrasonography in the Diagnosis of Chronic Ischemic Renal Disease in a Dog Model. **PLoS ONE** 8:1–7.

Feliciano MAR, Garcia PHS, Vicente WRR (2015) Introdução à Ultrassonografia. In: Feliciano MAR, Canola JC, Vicente WRR (Eds) **Diagnóstico por imagem em cães e gatos** São Paulo:MedVet, p. 53-77.

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

Hagman R (2004) **New aspects of canine pyometra - studies on epidemiology and pathogenesis**. 55 f. Doctoral thesis - Swedish University of Agricultural Sciences.

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

Karlsson I, Hagman R, Johannisson A, Wang L, Karlstam E, Wernersson S (2012) Cytokines as Immunological Markers for Systemic Inflammation in Dogs with Pyometra. **Reproduction in Domestic Animals** 47:337–341.

Keir I, Kellum JA (2015) Acute kidney injury in severe sepsis: Pathophysiology, diagnosis, and treatment recommendations. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care** 25:200–209.

Kenney EM, Rozanski EA et al (2010) Association between outcome and organ system dysfunction in dogs with sepsis: 114 cases (2003-2007). **Journal of the American Veterinary Medical Association** 236:83–87.

Langenberg C, Bellomo R, May C, Wan L, Egi M, Morgera S (2005) Renal blood flow in sepsis. **Critical care** 9:R363–R374.

Lima A, van Rooij T et al (2018) Dynamic Contrast-Enhanced Ultrasound Identifies Microcirculatory Alterations in Sepsis-Induced Acute Kidney Injury. **Critical Care Medicine** 20:1–9.

Maddens B, Daminet S, Smets P, Meyer E (2010) Escherichia coli Pyometra Induces Transient Glomerular and Tubular Dysfunction in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine** 24:1263–1270.

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

O'Connor PM, Evans RG (2010) Structural antioxidant defense mechanisms in the mammalian and nonmammalian kidney: different solutions to the same problem? **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology** 299:R723–R727.

Otto CM (2007) Sepsis in veterinary patients: What do we know and where can we go? **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care** 17:329–332.

Ripanti D, Dino G, Piovano G, Farca AM (2012) Application of the Sequential Organ Failure Assessment Score to predict outcome in critically ill dogs: Preliminary results. **Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde** 152:325–330.

Santos RV, Merlini NB, Souza, LP, Machado VMV, Pantoja, JCF, Prestes NC (2013) Ultrassonografia Doppler na avaliação renal de cadelas diagnosticadas com piometra antes e após tratamento com ovariosalpingohisterectomia. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 33:635–642.

Schneider AG, Hofmann L, Wuerzner G, Glatz N, Maillard M, Meuwly JY, Eggimann P, Burnier M, Vogt B (2012) Renal perfusion evaluation with contrast-enhanced ultrasonography. **Nephrology Dialysis Transplantation** 27:674–681.

Schneider AG, Goodwin MD, Bellomo R (2013) Measurement of kidney perfusion in critically ill patients. **Critical Care** 17:637–654.

Singer M, Detuschman CS et al (2016) The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). **Journal of American Medical Association** 315:801–810.

Volta A, Manfredi S et al (2014) Use of contrast-enhanced ultrasonography in chronic pathologic canine testes. **Reproduction in Domestic Animals** 49:202–209.

Waller KR, O'Brien RT, Zagzebski JA (2007) Quantitative contrast ultrasound analysis of renal perfusion in normal dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound** 48:373–377.

Wei K, Le E, Bin JP, Coggins M, Thorpe J, Kaul S (2001) Quantification of Renal Blood Flow With Contrast-Enhanced Ultrasound. **Journal of the American College of Cardiology** 37:1135–1140.

Zarjou A, Agarwal A (2011) Sepsis and Acute Kidney Injury. **Journal of the American Society of Nephrology** 22:999–1006.

Zeisbrich M, Kihm LP, Druschler F, Zeier M, Schwenger V (2015) When is contrast-enhanced sonography preferable over conventional ultrasound combined with Doppler imaging in renal transplantation? **Clinical Kidney Journal** 8:1-9.