

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS ELASTOGRÁFICAS DE
CARCINOMAS UROTELIAIS EM CÃES

Ana Paula Luiz de Oliveira
Médica Veterinária

2024

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

**ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS ELASTOGRÁFICAS DE
CARCINOMAS UROTELIAIS EM CÃES**

Discente: Ana Paula Luiz de Oliveira

**Orientador: Prof. Dr. Andriago Barboza
De Nardi**

**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 do Programa de Pós-graduação em
Ciências Veterinárias**

2024

O48e	Oliveira, Ana Paula Luiz de Estudo das características elastográficas de carcinomas uroteliais em cães / Ana Paula Luiz de Oliveira. -- Jaboticabal, 2024 67 p. : fotos Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Andriago Barboza De Nardi Coorientador: Ricardo Andres Ramirez Uscategui 1. Diagnóstico não invasivo. 2. Elastografia ARFI. 3. Oncologia veterinária. 4. Ultrassonografia. I. Título.
------	--



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS ELASTOGRÁFICAS DE CARCINOMAS UROTELIAIS EM CÃES

AUTORA: ANA PAULA LUIZ DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: ANDRIGO BARBOZA DE NARDI

COORDENADOR: RICARDO ANDRES RAMIREZ USCATEGUI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências Veterinárias, área: Morfofisiologia e Reprodução Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ANDRIGO BARBOZA DE NARDI (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
JEANNE BROCH SIQUEIRA
DATA: 02/12/2024 16:29:09-0809
Verifique em <https://validar.cb.gov.br>

Profa. Dra. JEANNE BROCH SIQUEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Medicina Veterinária / Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) - Unai/MG

Profa. Dra. DANUTA PULZ DOICHE (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 02 de dezembro de 2024

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Ana Paula Luiz de Oliveira, nascida em 27 de fevereiro de 1992 em Unaí-MG, filha de Maria Rosângela Luiz de Oliveira e Geraldo Magela de Oliveira. Bacharela em Enfermagem (2012) pela Faculdade de Ciências e Tecnologia de Unaí - FACTU com ênfase em Saúde do Idoso. Bacharela em Interdisciplinar em Ciências Agrárias (2017) pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri / UFVJM - Campus Unaí (MG). Bacharela em Medicina Veterinária (2020) pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri / UFVJM - Campus Unaí (MG). Residência em Programa de Residência em Área Profissional da Saúde - Medicina Veterinária e Saúde (2022) da FCAV/Unesp - Jaboticabal - Subárea Reprodução Animal e Obstetrícia Veterinária. Aperfeiçoamento em Cirurgia de Pequenos Animais (2023) e em Cirurgia Oncológica e Reconstructiva em Cães e Gatos (2023). Membro do Serviço de Oncologia de Cães e Gatos do Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel" da UNESP Campus de Jaboticabal. Atualmente aluna de Aperfeiçoamento em Oncologia em Cães e Gatos, membro associado da Associação Brasileira de Oncologia Veterinária (ABROVET) e aluna de mestrado em Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias pela UNESP - Universidade Estadual Paulista Campus de Jaboticabal - Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias/FCAV.

“Quem me protege não dorme”

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha Mãe!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a Deus e ao Universo pela oportunidade de experienciar o que chamamos de vida e por permitir que eu nascesse do ser humano mais incrível: minha mãe. Meus agradecimentos à minha mãe jamais poderão chegar aos pés do que eu devo a ela e do que ela merece. “Ela que é um pedacinho de Deus no meio do mundo”, sempre esteve disposta a pegar na minha mão e embarcar em toda e qualquer aventura comigo, mesmo que sentisse muito medo. Minha Mãe, que vivenciou os dias de angústia, rezou e zelou por mim e se privou para que fôssemos “alguém”.

Pai, hoje, com ferramentas que adquiri por meio de todo o seu esforço e da Mamãe, consigo compreender a dor e o medo que o Senhor carregou nos dias sombrios e nas incertezas. Hoje compreendo que o Senhor me tomou como aliada contra o sistema e contra o rumo que nossa história estava predestinada a tomar, sempre mostrando que, mesmo sendo muito difícil, eu deveria permanecer firme e forte como aroeira. Como sua aliada, aprendi que as dores físicas podem ser superadas diariamente, o que não significa que não precisemos de pausas.

Pai e Mãe, obrigada por honrarem nossa existência. Obrigada por continuarem mesmo carregando dores físicas contínuas, por me incentivarem tanto aos estudos, por estarem presentes em absolutamente todos os momentos: dos mais difíceis e cruéis que passei às honrarias que recebi. Queria que o mundo soubesse como vocês fizeram de tudo para que tivéssemos oportunidades e pudéssemos caminhar um tantinho a mais. Agradeço por me ensinarem que, independentemente do que aconteça e do que possam fazer, devo sempre ser honesta, justa e honrar os meus princípios. Não é fácil trilhar esse caminho. A frase da Mamãe sempre fica na cabeça: “Você é isso? Você fez isso? Sua intenção foi essa? Se não, fica em paz!”.

Agradeço à minha terra, também sou filha do Cerrado Mineiro, apaixonada por meu povo e pelo nosso jeito de ser. Agradeço ao meu avô Olímpio, que me chamava de Seriema pelas pernas compridas e astúcia parecidas. Cantamos alto quando estamos felizes e ainda mais alto quando precisamos nos proteger. Obrigada Vovô. O sentimento mais doloroso que guardo comigo é saber que o

Senhor se foi, ainda sem escrita, assinando com tinta os papéis que lhe tiraram esse poder. Obrigada Vovó Zica, carregue sua força, sua garra, sua sede de conhecer e de se atualizar. Tenho um respeito muito grande por todo o movimento que a Senhora começou, o que mudou o rumo de várias gerações.

Agradeço aos meus afilhados: Sthéfane, Iasmim, Miguel, Sophia, Alanna e Camilo. Vocês são os amores da minha vida. Iasmim e Sophia, obrigada por serem meus remedinhos para a depressão, por horas de ligações de vídeos nos dias difíceis ou por fazerem companhia enquanto eu estudava. Vocês não têm ideia do amor que sinto por vocês, da admiração e respeito pelos seres que são e de como vocês estimulam o meu desenvolvimento e crescimento. Iasmim, a Dindinha é uma antes e outra depois do seu nascimento. Inclusive, a melhor lembrança que carregue comigo é o momento do seu parto, ver você nascer mudou o rumo da minha existência. Somos um encontro de almas. Você curou muitas feridas e me transforma a cada encontro. Obrigada por trazer tanta alegria para nossa família. Alanna, a Dindinha te ama e ainda vai acompanhar mais do seu crescimento.

Ao meu namorado, único e eterno amor, Jader, com quem divido minha história, história essa que começou desde a infância, com admiração e respeito pelo ser humano que você é. Obrigada por ser o companheiro mais paciente do mundo. Sou grata a Deus e ao Universo por nossos caminhos terem se cruzado novamente.

Agradeço à minha melhor e mais incrível amiga Karielly, que me deu meu pacotinho de amor para eu ser Dindinha e que entende o que eu penso apenas com o olhar.

Agradeço às amigas que aqui conheci e que me ajudaram muito: Camila, Jennifer, Priscila Silva, Priscila Del Águila, Renata, Mariana, Laís, Gisele e Sofia.

Agradeço a todos os funcionários do Hospital Veterinário/FCAV, Regina, Juliana, Dona Cacildinha, Dona Dalva, Cirlene, Rosângela, Elisângela, Maria Luísa, Lidiane, Marcelo, Nido, Fábio, Miguel, Beterraba, Renata, Marcinha, Marcinho, Marina, Isilda, Isildinha, Edson Seiscentos, Edson Trezentos, Márcio, Marcinha, Letícia, Elaine e toda equipe do Laboratório de Nutrição. Encontrei em vocês uma equipe que esteve comigo em diversos momentos, muitos me cuidaram como família e estarão sempre em meu coração.

Agradeço à Professora Lindsay, à Professora Mirela, à Professora Paola, à Professora Danuta, à Professora Rosemeri por toda a ajuda ao longo dos anos. Agradeço aos Professores Marcus e Ricardo por me possibilitarem o ingresso à pós-graduação. E agradeço especialmente ao Professor Andriago Barboza De Nardi, meu orientador, que estendeu a mão em momentos difíceis e compreendeu meu anseio pelo conhecimento e pelo crescimento profissional.

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

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Bexiga canina: anatomia e histologia do tecido.....	3
2.2. Carcinoma Urotelial	4
2.2.1. Etiologia e prevenção.....	5
2.2.2. Sinais clínicos e exames laboratoriais	6
2.2.3. Diagnóstico do Carcinoma Urotelial	7
2.2.4. Anamnese e exame físico	8
2.2.5. Urinálise	8
2.2.6. Citologia, PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) BRAF e histopatologia	9
2.2.7. Diagnóstico por imagem.....	9
2.2.7.1. Ultrassonografia modo-B.....	9
2.2.7.2. Elastografia	13
2.2.7.3. Elastografia ARFI (<i>Acoustic Radiation Force Impulse</i>).....	17
2.2.7.4. Aplicabilidade da elastografia ARFI na Medicina Veterinária	19
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	22
REFERÊNCIAS.....	23
CAPÍTULO 2 - Estudo das características elastográficas de carcinomas uroteliais em cães	30
1. Introdução	30
2. Métodos	32
2.1. <i>Animais</i>	32
2.2. <i>Anamnese e Exame Físico</i>	33
2.3. <i>Diagnóstico por Imagem</i>	33
3. Estatística.....	38

4. Resultados	38
4.1. Achados qualitativos	38
4.2. Achados quantitativos	40
5. Discussão	42
6. Conclusões	46
Referências	46

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)



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



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

DECLARAÇÃO

DECLARAMOS que o projeto de pesquisa intitulado **"Estudos das características elastográficas de carcinomas uroteliais de cães"**, protocolo nº 4280/22, 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), aprovado em reunião ordinária de 17 de agosto de 2022, teve um acréscimo de dez (10) cães na pesquisa, com aprovação **"Ad referendum"** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP.

Vigência do Projeto	01/09/2022 a 01/03/2024
Espécie / Linhagem	<i>Canis familiaris</i>
Nº de animais	58 cães
Peso / Idade	Sem restrição
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Rotina hospitalar do Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel" (UNESP – Jaboticabal) e Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos (UNESP-Jaboticabal).

Jaboticabal, 23 de novembro de 2023.


Profª Drª Paola Castro Moraes
Vice - Coordenadora – CEUA

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

ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS ELASTOGRÁFICAS DE CARCINOMAS UROTELIAIS EM CÃES

RESUMO – As neoplasias vesicais em cães representam aproximadamente 2% de todas as lesões malignas registradas, sendo o carcinoma urotelial (UC) a forma mais comum e caracterizada por alta agressividade. A literatura veterinária ainda é escassa em estudos que investiguem o uso da elastografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) na avaliação dessas neoplasias. Este estudo teve como objetivo caracterizar os valores da velocidade de onda de cisalhamento (SWV) em tecidos vesicais saudáveis e em casos de carcinoma urotelial canino, além de avaliar o potencial da elastografia ARFI como ferramenta preditiva para a detecção de malignidade. Foram avaliados sete cães diagnosticados com carcinoma urotelial e nove cães saudáveis, utilizando ultrassonografia modo-B e elastografia ARFI. Os resultados mostraram que a SWV foi significativamente maior nos cães com carcinoma urotelial (mediana de 2,53 m/s) em comparação com os cães saudáveis (mediana de 1,41 m/s; $p = 0,0045$). A espessura da parede vesical também foi significativamente maior nos cães com neoplasia ($0,28 \pm 0,05$ cm) em comparação aos cães saudáveis ($0,14 \pm 0,26$ cm; $p = 0,0003$). Esses achados sugerem que a elastografia ARFI é uma ferramenta promissora para o diagnóstico do carcinoma urotelial em cães, oferecendo uma abordagem não invasiva e quantitativa que pode auxiliar na detecção precoce e no manejo clínico dessa neoplasia.

Palavras-chave: diagnóstico não invasivo, elastografia ARFI, oncologia veterinária, ultrassonografia

STUDY OF ELASTOGRAPHIC CHARACTERISTICS OF UROTHELIAL CARCINOMAS IN DOGS

ABSTRACT – Bladder neoplasms in dogs represent approximately 2% of all recorded malignant lesions, with urothelial carcinoma (UC) being the most common form, characterized by high aggressiveness. However, the veterinary literature is still scarce in studies investigating the use of ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) elastography in the assessment of these neoplasms. This study aimed to characterize shear wave velocity (SWV) values in healthy bladder tissues and canine urothelial carcinoma cases, as well as to evaluate the potential of ARFI elastography as a predictive tool for malignancy detection. Seven dogs diagnosed with urothelial carcinoma and nine healthy dogs were evaluated using B-mode ultrasound and ARFI elastography. Results showed that SWV was significantly higher in dogs with urothelial carcinoma (median 2.53 m/s) compared to healthy dogs (median 1.41 m/s; $p = 0.0045$). Bladder wall thickness was also significantly greater in dogs with neoplasia (0.28 ± 0.05 cm) compared to healthy dogs (0.14 ± 0.26 cm; $p = 0.0003$). These findings suggest that ARFI elastography is a promising tool for diagnosing urothelial carcinoma in dogs, offering a non-invasive and quantitative approach that may aid in the early detection and clinical management of this neoplasm.

Keywords: non-invasive diagnosis, ARFI elastography, veterinary oncology, ultrasonography

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

UC	Carcinoma Urotelial
TCC	Carcinoma de Células Transicionais
ARFI	<i>Acoustic Radiation Force Impulse</i>
m/s	Metros por segundo
mm	Milímetros
ml/kg	Mililitro por quilograma
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
OMS	Organização Mundial da Saúde
SWV	<i>Shear Wave Velocity</i>
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
UNESP	Universidade Estadual Paulista
ROI	Região de Interesse

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Página

Figura 1 – Imagem ultrassonográfica modo-B de bexiga de um cão sem afecções urinárias, com mensuração de diferentes regiões da parede (1.0 e 1.1mm) e com conteúdo anecogênico no interior, sendo possível diferenciar as camadas da parede em mucosa (mais interna), submucosa, muscular (linha hipoeecogênica) e serosa. PB: parede da bexiga.....	12
---	----

CAPÍTULO 2

Figura 1 – A) Avaliação ultrassonográfica modo-B da formação vesical não pedunculada, com invasão da parede da bexiga e dimensões (altura e comprimento) em paciente canino com carcinoma urotelial. B) Avaliação ultrassonográfica modo-B e mensuração da espessura da parede da bexiga altura em paciente canino com carcinoma urotelial.....	34
--	----

Figura 2 – Imagens obtidas por meio da elastografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) de formação vesical em paciente canino com carcinoma urotelial. A) Imagem em modo-B do neoplasma vesical e B) Mensuração de sua altura. C) Modo qualidade: mapa de qualidade onde as áreas homogêneas e esverdeadas indicam alta qualidade do exame, enquanto as áreas heterogêneas e amareladas/avermelhadas indicam baixa qualidade. D) Modo velocidade: elastograma para avaliação quantitativa da rigidez tecidual (m/s), as diferentes cores no elastograma indicam a deformabilidade do tecido: azul para estruturas menos rígidas, verde para rigidez intermediária e vermelho para estruturas mais rígidas. A distribuição de calipers de regiões de interesse (ROIs) realizada aleatoriamente com base no mapa de qualidade.....	36
--	----

Figura 3 – Imagem obtida pelo aparelho ACUSON S2000/SIEMENS, modo-B (A) e elastografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) (B) em parede da bexiga de cão saudável. A) Avaliação ultrassonográfica modo-B,

avaliação da repleção e mensuração da espessura da parede da bexiga de um cão saudável. B) Modo qualidade: imagem do mapa de qualidade, onde as áreas homogêneas e esverdeadas indicam alta qualidade do exame, enquanto as áreas heterogêneas e amareladas/avermelhadas indicam baixa qualidade..... 37

Figura 4 – Imagens obtidas por meio da elastografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) em avaliação da parede da bexiga de cão saudável. A) Modo velocidade: elastograma para avaliação quantitativa da rigidez tecidual (m/s), a partir das diferentes cores do elastograma é possível compreender a deformabilidade do tecido onde a cor azul indica estruturas menos rígidas que as de cor verde (rigidez intermediária), e as regiões com cor vermelha apresentam estruturas mais rígidas. B) Distribuição de cinco calipers em ROIs aleatoriamente na região dorsal da bexiga saudável com base no mapa de qualidade..... 37

Figura 5 – Imagens fotográficas trans cirúrgico cão, macho, Border Collie, 8 anos, com diagnóstico definitivo de Carcinoma Urotelial, submetido à tratamento cirúrgico cistectomia parcial por carcinoma urotelial, material foi encaminhado para exame histopatológico. A) Exposição da bexiga canina por meio de celiotomia. B) Cistotomia e exposição da formação por carcinoma urotelial em bexiga canina. C) Material excisado após cistectomia parcial. PB (parede da bexiga) e UC (formação por carcinoma urotelial)..... 39

Figura 6 – Curvas ROC (Receiving Operating Characteristic) comparando a sensibilidade e especificidade da velocidade da onda de cisalhamento na elastografia ARFI e da espessura da parede da bexiga entre cães saudáveis e com carcinoma urotelial. SWV: velocidade das ondas de cisalhamento..... 42

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Página

Tabela 1 – Caracterização ultrassonográfica por elastografia ARFI (<i>Acoustic Radiation Force Impulse</i>) e modo-B pela espessura da parede da bexiga em cães saudáveis e cães com carcinoma urotelial.....	41
Tabela 2 - Resultados da associação entre achados eletrográficos de ARFI (<i>Acoustic Radiation Force Impulse</i>) e a espessura da parede da bexiga com a presença de carcinoma urotelial.....	41

CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais

1. INTRODUÇÃO

As neoplasias da bexiga representam cerca de 2% de todas as lesões malignas registradas em cães (Knapp e McMillan, 2013), afetando milhares deles em todo o mundo anualmente (Fulkerson e Knapp, 2015). O carcinoma urotelial (UC – *Urothelial Carcinoma*), também conhecido como carcinoma de células de transição (TCC – *Transitional Cell Carcinoma*), é a forma mais comum entre os neoplasmas da bexiga e apresenta caráter altamente agressivo (Tagawa et al., 2020).

A ultrassonografia é o método preferido pelos médicos veterinários para identificar e monitorar a evolução tumoral, pois oferece protocolo preciso, acessível e de baixo custo (Fulkerson e Knapp, 2015). As vantagens da ultrassonografia convencional (Modo-B) incluem o curto tempo de execução do exame, principalmente quando comparada à cistografia de duplo contraste ou à tomografia computadorizada e é o método mais sensível para avaliação vesical extrapélvica. Além disso, os aparelhos de ultrassonografia convencional são mais prontamente disponíveis em comparação com os de tomografia computadorizada ou ressonância magnética (Naughton et al., 2012).

Outras técnicas ultrassonográficas, como a elastografia ARFI (*Acoustic Radiation Force Impulse*), têm sido implementadas como métodos auxiliares no estudo de diversas neoplasias em cães, como neoplasmas mamários, cutâneos e esplênicos (Park et al., 2013; Feliciano et al., 2017; Cruz et al., 2022), demonstrando resultados promissores na diferenciação entre malignidade e benignidade. Entretanto, até o momento, não foram encontrados estudos que demonstrem a aplicabilidade dessa técnica no estudo do carcinoma urotelial em caninos.

Estudos na medicina humana utilizaram diferentes técnicas de elastografia para diagnosticar doenças vesicais. A elastografia 2D demonstrou eficácia no diagnóstico de cistite aguda em crianças, com sensibilidade de 90,5% e especificidade de 88,9%. Em casos de obstrução do colo vesical feminino, a elastografia ARFI apresentou maior sensibilidade e acurácia em comparação à elastografia 2D. Além disso, a combinação desses dois métodos mostrou um desempenho ainda melhor. Para neoplasmas vesicais, a elastografia 2D e a análise

do conteúdo de fibras de colágeno diferenciaram carcinomas uroteliais de bexiga de baixo e alto grau, com valores de elasticidade e áreas de fibras colágenas significativamente maiores nos carcinomas de alto grau. A elastografia ARFI também se mostrou útil na diferenciação entre massas vesicais malignas e benignas (Dede, Teke, Penbegül, 2018; Qian et al., 2019; Huang et al., 2020; Durmaz et al., 2021).

Partindo da hipótese de que a elastografia ARFI pode fornecer dados quantitativos reprodutíveis que auxiliem no diagnóstico precoce do carcinoma urotelial, oferecendo abordagem não invasiva e acessível para a prática clínica veterinária, este estudo objetivou caracterizar as propriedades elastográficas de carcinomas uroteliais em cães utilizando a elastografia ARFI, e avaliar seu potencial diagnóstico ao comparar a rigidez tecidual entre tecidos saudáveis e neoplásicos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Bexiga canina: anatomia e histologia do tecido

A bexiga é uma víscera oca e musculomembranosa, que funciona como reservatório temporário para a urina produzida pelos rins, cuja forma, tamanho e posição variam conforme a quantidade de urina que contém. Anatomicamente, é dividida em trígono, porção média e polo cranial. A área triangular situada entre os dois meatos ureterais e a abertura da uretra é denominada trígono vesical (König, 2016; Feliciano, 2019). A urina produzida pelos cães é translúcida e a bexiga quando contraída, é pequena e globular e localiza-se sobre ossos púbicos. Pode ser dividida em um ápice cranial (*vertex vesicae*), um corpo intermediário (*corpus vesicae*) e um colo caudal (*cervix vesicae*), o qual é contínuo com a uretra (König, 2016).

A bexiga é revestida por epitélio de transição. A mucosa da bexiga possui pregas em padrão irregular quando vazia. Quando distendida, as pregas desaparecem, com exceção de duas pregas (*plicae uretericae*), as quais se prolongam da abertura ureteral até o colo bexiga, onde se unem para formar a crista uretral que é contínua com a uretra. A área triangular delimitada por essas pregas recebe a denominação de trígono da vesical (*trigonum vesicae*) (König, 2016).

Histologicamente a parede da bexiga é composta por epitélio de transição estratificado em geral com 3-5 fileiras, este tecido epitelial se apoia em uma lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo, mucosa e submucosa, apresenta uma espessa túnica muscular lisa e adventícia ou serosa (Watanabe, 1954; Eurell, 2012; Camillo et al., 2017).

A mucosa é a extensão da submucosa composta de um tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos. O interior desta camada é coberto com a lâmina própria, que é revestida com o epitélio. A submucosa consiste em tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos (Watanabe, 1954; Eurell, 2012; Camillo et al., 2017).

O músculo liso da túnica muscular, denominado músculo detrusor, compõe-se de três subcamadas de músculo liso, a externa e a interna correndo longitudinalmente e a mediana circularmente (Watanabe, 1954; Eurell, 2012).

Tecidos conjuntivos frouxos são encontrados entre os feixes musculares, especialmente, entre as subcamadas (Watanabe, 1954; Eurell, 2012).

2.2. Carcinoma Urotelial

Tumores da bexiga correspondem a aproximadamente 2% de todas as neoplasias em cães. Dentre as neoplasias dos órgãos urinários, a bexiga é a mais acometida, e o carcinoma urotelial (UC - *Urothelial Carcinoma*) é o mais prevalente, com incidência crescente nos últimos 30 anos (Knapp et al., 2014; Daleck e De Nardi, 2017).

O carcinoma urotelial (UC), anteriormente conhecido como carcinoma de células transicionais, pode se apresentar como uma formação de base ampla com nódulos salientes ou como um espessamento difuso da parede vesical (Daleck e De Nardi, 2017).

As células neoplásicas cobrem a superfície mucosa em camadas irregulares, invadem a lâmina própria e formam aglomerados sólidos e ácinos. Elas também podem ser encontradas nas camadas musculares e dentro de vasos linfáticos da submucosa (Daleck e De Nardi, 2017). À medida que o tumor se expande, pode ocorrer obstrução uretral, resultando em retenção urinária. A obstrução do fluxo ureteral também pode ocorrer (Knapp e McMillan, 2013; Knapp et al., 2014; Daleck e De Nardi, 2017).

O UC é frequentemente localizado na região do trígono vesical. Metástases em linfonodos e metástases distantes foram relatadas em cerca de 16% dos cães no diagnóstico e em 50% dos cães no óbito (Knapp et al., 2000). O UC em cães geralmente apresenta características agressivas, com propensão à invasão da parede da bexiga e metástase. Em contrapartida, cerca de 80% dos tumores de bexiga em humanos são superficiais e não invadem profundamente a parede vesical (Hanazono et al., 2014). A maioria dos UC trata-se de neoplasmas infiltrativos papilares de alto grau nos cães (Knapp et al, 2014).

O carcinoma urotelial em cães é patologicamente muito semelhante ao dos humanos. O grau do tumor e a profundidade da invasão têm implicações semelhantes na agressividade e progressão tumoral em ambas as espécies,

sugerindo que os métodos diagnósticos e terapêuticos aplicados em humanos podem ser adaptados para uso veterinário (Valli et al., 1995; De Brot et al., 2018).

Os processos metastáticos ocorrem mais frequentemente nos pulmões, linfonodos regionais, rins, fígado e próstata, podendo também acometer ossos longos, crânio e olhos em alguns casos (Daleck e De Nardi, 2017).

2.2.1. Etiologia e prevenção

A etiologia do câncer de bexiga em cães é multifatorial (Knapp e McMillan, 2013). Vários fatores de risco ambientais foram identificados para o carcinoma urotelial (UC) em cães, incluindo variantes genéticas hereditárias e exposição a corantes de anilina. No entanto, é provável que existam muitos outros fatores de risco ainda não identificados (Knapp e McMillan, 2013; Knapp et al., 2014). Diversos estudos foram conduzidos para identificar fatores ambientais para o UC em cães, com a hipótese de que possam desempenhar um papel relevante também no desenvolvimento do UC em humanos (Knapp et al., 2014).

Os fatores de risco para UC em cães incluem sexo feminino, histórico de castração, obesidade e exposição a produtos químicos (Knapp et al., 2014). Fatores endógenos ou relacionados ao paciente também influenciam o desenvolvimento do UC, principalmente devido à exposição prolongada do tecido urotelial aos agentes carcinogênicos presentes na urina. O metabolismo do triptofano, que gera ortoaminofenol, também pode contribuir para o desenvolvimento do UC (Daleck e De Nardi, 2017).

Receptores de andrógenos e estrogênios foram detectados no UC canino, embora seu papel no desenvolvimento e progressão do câncer de bexiga ainda não seja totalmente compreendido (Knapp et al., 2014). Os scottish terriers correm risco aumentado de desenvolver UC (> 20 vezes maior do que outras raças), e os cães pastores shetland, west highland white terriers e outros terriers também são conhecidos por serem predispostos (Knapp e McMillan, 2013; Knapp et al., 2014). O UC geralmente ocorre em cães mais velhos, com idades variando de nove a 11 anos, embora a doença possa surgir mais cedo em uma minoria de casos (Daleck e De Nardi, 2017).

Embora ainda não existam estudos prospectivos sobre a prevenção, sugere-se limitar a exposição a produtos químicos para gramados e a produtos antigos de controle de pulgas. Recomenda-se também fornecer dieta rica em vegetais pelo menos três vezes por semana, especialmente para cães de raças com alto risco de UC (Knapp et al., 2014). Os proprietários de cães com risco elevado de UC devem ser informados e incentivados a monitorar sinais de problemas urinários, buscando avaliação médico-veterinária ao notar qualquer alteração. Até o momento, não há estudos prospectivos publicados que determinem o valor da triagem e detecção precoce do UC (Knapp e McMillan, 2013).

2.2.2. Sinais clínicos e exames laboratoriais

O carcinoma urotelial apresenta sinais clínicos semelhantes aos de outras afecções do trato urinário, como hematuria, disúria, polaciúria e incontinência urinária (Norris et al., 1992; Knapp e McMillan, 2013; Fulkerson e Knapp, 2015; Daleck e De Nardi, 2017). Caso formação vesical cresça de modo exacerbado, pode impedir a passagem de urina em decorrência de obstrução de colo vesical ou da uretra e o paciente apresentar retenção urinária e estrangúria (Knapp e McMillan, 2013; Fulkerson e Knapp, 2015; Daleck e De Nardi, 2017). Alterações decorrentes de metástases ou síndrome paraneoplásica também podem ocorrer, incluindo claudicação por metástase óssea ou osteopatia hipertrófica (Norris et al., 1992; Knapp e McMillan, 2013; Fulkerson e Knapp, 2015; Daleck e De Nardi, 2017). Alguns cães podem apresentar polidipsia, possivelmente de origem psicogênica (Daleck e De Nardi, 2017).

Os sinais do UC são semelhantes aos de uma infecção urinária, sendo comum a ocorrência de infecções secundárias. É crucial identificar e tratar essas infecções imediatamente (Fulkerson e Knapp, 2015). Os sinais urinários podem persistir por semanas ou meses, resolvendo-se temporariamente com antibioticoterapia (Knapp e McMillan, 2013). Cães com UC correm alto risco de infecções bacterianas secundárias, o neoplasma leva à micção e retenção urinária anormais, afetando a qualidade de vida. Outro grande problema é que as bactérias estão se tornando cada vez mais resistentes aos antibióticos (Fulkerson e Knapp,

2015). Uma neoplasia vesical nem sempre provoca sinais clínicos relacionados ao sistema urinário, e em casos raros, os animais podem ser assintomáticos (Burnie e Weaver, 1983).

Quando as massas tumorais afetam ambas as papilas ureterais, ocorre diminuição progressiva do fluxo urinário para a bexiga, levando à acumulação de urina nos ureteres e na pelve renal, resultando em hidroureteronefrose (Knapp e McMillan, 2013; Daleck e De Nardi, 2017).

O sistema urinário é responsável pela eliminação de resíduos e regulação dos eletrólitos, podendo causar distúrbios metabólicos quando em casos de doenças (Dinesh et al., 2015). Na ausência de micção, o paciente pode desenvolver sinais clínicos de uremia, como anorexia, prostração, vômito, desidratação e alterações laboratoriais, incluindo azotemia e hiperpotassemia (Knapp e McMillan, 2013; Daleck e De Nardi, 2017). Os dados laboratoriais geralmente são inespecíficos, com exceção da urinálise. As alterações mais comuns na urinálise incluem hematúria e sedimentos urinários inflamatórios, com a presença de células (Norris et al., 1992).

2.2.3. Diagnóstico do Carcinoma Urotelial

Para diagnóstico do UC é necessária avaliação minuciosa do órgão para diferenciá-lo de outras lesões benignas (Hanazono et al., 2014). Os sinais clínicos do UC são comuns a outras doenças do trato urinário inferior ou duas afecções podem coexistir (Fulkerson e Knapp, 2015; Daleck e De Nardi, 2017).

Em cães com suspeita ou confirmação de UC, a avaliação clínica deve incluir a análise da saúde geral do paciente, como hemograma completo, perfil bioquímico sérico, urinálise e cultura de urina. Além disso, o estadiamento tumoral deve ser realizado por meio de radiografia torácica, ultrassonografia abdominal e exame do trato urinário. Para minimizar o risco de disseminação do carcinoma urotelial durante a cistocentese, a urina pode ser coletada por micção espontânea ou cateterismo (Knapp e McMillan, 2013; (Fulkerson e Knapp, 2015).

Os diagnósticos diferenciais para UC incluem outras neoplasias, cistite crônica, cistite polipoide, pólipos fibroepiteliais, cistite granulomatosa, uretrite, gossipiboma, cálculos e pseudotumor inflamatório (Fulkerson e Knapp, 2015).

Fatores que influenciam negativamente o prognóstico incluem o estágio avançado no momento do diagnóstico, localização anatômica que dificulta a excisão cirúrgica ou a redução significativa do tamanho do tumor, e eficácia limitada da quimioterapia (Rocha et al., 2000). Fatores que favorecem o prognóstico incluem a localização do tumor que permite a extirpação cirúrgica, a ausência de envolvimento simultâneo da bexiga e da uretra, e o sexo masculino (Knapp e McMillan, 2013; Fulkerson e Knapp, 2015).

2.2.4. Anamnese e exame físico

Durante a anamnese é importante investigar os sinais clínicos referentes a alterações do trato urinário inferior, incluindo sinais compatíveis com metástases (Knapp, 2014). Em cães com carcinoma urotelial, o exame físico, que inclui a técnica de palpação retal, pode revelar espessamento da uretra e da região do trígono da bexiga, aumento dos linfonodos ilíacos e pélvicos e, às vezes, massa na bexiga ou bexiga distendida (Knapp e McMillan, 2013; Fulkerson e Knapp, 2015).

Durante a palpação vesical, podem ser percebidas massas ou espessamento se a neoplasia estiver avançada. Nos casos de obstrução ureteral unilateral, é possível palpar um rim aumentado devido à hidronefrose (Daleck e De Nardi, 2017). É importante destacar que achados normais durante o exame físico não excluem a presença do carcinoma urotelial (Knapp e McMillan, 2013; Fulkerson e Knapp, 2015).

2.2.5. Urinálise

As células envolvidas no desenvolvimento do UC são as células epiteliais que revestem a mucosa da pelve renal, ureter, bexiga urinária e uretra. Encontrar células epiteliais pequenas e de forma ocasional na urina é normal (Reine e Langston, 2005; Knapp e McMillan, 2013).

O tamanho das células epiteliais observadas na urinálise pode auxiliar na identificação de sua origem: células renais são as menores; células do ureter, bexiga e uretra proximal são maiores que as células renais; e células da uretra distal, vagina e prepúcio são as maiores (Reine e Langston, 2005). Um aumento no

número de células epiteliais pode ser associado à infecção, inflamação, irritação ou neoplasia (Reine e Langston, 2005).

2.2.6. Citologia, PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) BRAF e histopatologia

Em relação aos métodos de diagnóstico do UC, a citologia urinária é amplamente utilizada, mas possui baixa sensibilidade e requer ampla experiência do patologista. Distinguir células neoplásicas de transição de alterações metaplásicas em células de transição associadas a inflamação, infecção ou irritação mecânica ou química é desafiador, o que limita a eficácia da citologia urinária como método diagnóstico definitivo para carcinoma de células transicionais (Têtu, 2009).

A mutação BRAF V450E foi identificada com uma frequência de 67% em carcinomas uroteliais e 80% em carcinomas prostáticos (Mochizuki et al., 2015a). A alta frequência dessa mutação em carcinomas uroteliais caninos sugere seu potencial para aplicações diagnósticas. A técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) para detectar essa mutação na urina de cães é uma abordagem recente e promissora (Mochizuki et al., 2015a; Mochizuki et al., 2015b).

O diagnóstico definitivo de UC é realizado por histopatologia de biópsias de tecidos obtidas por cistoscopia, cirurgia ou cateter (Fulkerson e Knapp, 2015).

2.2.7. Diagnóstico por imagem

2.2.7.1. Ultrassonografia modo-B

Em 1880, os irmãos Pierre e Jacques Curie descobriram o efeito piezoelétrico em cristais de quartzo. Posteriormente, em 1917, Paul Langevin utilizou essa descoberta para detectar submarinos, desenvolvendo assim o SONAR (Sound Navigation and Ranging) (Dos Reis, 2011; Shin e Jeong, 2013). Materiais piezoelétricos têm a capacidade de contrair ou expandir ao serem submetidos a uma tensão elétrica, resultando em uma alteração de volume, o que foi crucial para a criação dessa tecnologia (Dos Reis, 2011; Shin e Jeong, 2013).

Uma fonte acústica, ou transdutor, gera ondas sonoras em uma frequência específica. Os seres humanos podem ouvir sons que variam de 20 a 20.000 Hz, e frequências superiores a esse intervalo são classificadas como ultrassom (Peixoto et al., 2010; Shin e Jeong, 2013). O efeito piezoelétrico, descoberto pelos irmãos Pierre e Jacques Curie, mostrou que certos materiais podem converter energia mecânica em energia elétrica. No contexto do ultrassom, essa conversão é utilizada para criar imagens ao medir o tempo que as ondas sonoras levam para retornar ao transdutor após refletirem nas estruturas internas de um material (Dos Reis, 2011).

Como o ultrassom é uma onda sonora, diferentemente da luz, ele necessita de um meio para se propagar, e sua velocidade varia conforme as características desse meio (Peixoto et al., 2010; Dos Reis, 2011; Shin e Jeong, 2013). A velocidade de transmissão do ultrassom é constante dentro de um mesmo meio, mas é influenciada por fatores como densidade e rigidez do meio. Ela é calculada a partir da frequência e do comprimento de onda (Peixoto et al., 2010; Shin e Jeong, 2013). Especificamente, a velocidade é inversamente proporcional à densidade e proporcional à rigidez do meio, o que resulta em variações no brilho observado devido à propagação das ondas em tecidos com diferentes densidades e rigidezes (Dos Reis, 2011; Shin e Jeong, 2013).

O ultrassom gera imagens utilizando ondas ultrassônicas baseadas no princípio pulso-eco. Os tecidos refletem os ecos de volta para o transdutor. As múltiplas ondas que retornam ao transdutor são usadas para criar imagens em escala de cinza, exibidas em um monitor. Este processo, conhecido como ultrassonografia modo-B, revela informações sobre a profundidade e a amplitude dos ecos de retorno (Augusto e Pchaly, 2000; Peixoto et al., 2010; Dos Reis, 2011; Shin e Jeong, 2013; Papaléo e De Souza, 2019).

A ultrassonografia é frequentemente utilizada na medicina veterinária como exame de triagem para avaliar os órgãos abdominais. É considerada não invasiva, amplamente disponível e não requer anestesia (Hanazono et al., 2014). A avaliação da bexiga urinária é uma parte essencial do exame ultrassonográfico abdominal (Smereczyński et al., 2014).

A ultrassonografia transabdominal também é amplamente empregada para o estadiamento pré-operatório de metástases de nódulos tumorais (TNM) em

pacientes com tumor de bexiga (Hanazono et al., 2014). De acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) para o estadiamento de tumores da bexiga canina (Owen e Organização Mundial da Saúde, 1980), 20% dos cães com UC têm tumores classificados como T3, que invadem órgãos vizinhos (Knapp et al., 2014).

O exame ultrassonográfico permite a detecção de 95% das lesões na bexiga urinária com diâmetro superior a 5 mm. O diagnóstico precoce do UC é crucial, pois o atraso no tratamento pode afetar significativamente o prognóstico (Smereczyński et al., 2014). A ultrassonografia abdominal é um método sensível para detectar anormalidades na bexiga de forma não invasiva, tornando-se o principal método de triagem em pacientes com macro ou microhematúria (Denkhaus, Crone-Münzebrock e Huland, 1985). Em casos de bexiga bem distendida, é possível identificar tumores tão pequenos quanto 2 a 3 mm, dependendo de sua localização (Denkhaus, Crone-Münzebrock e Huland, 1985).

Quando os tumores de bexiga estão presentes, geralmente poderão ser visibilizados no trígono e podem se estender para o corpo vesical (Feliciano, 2019). Caso haja obstrução uretral prolongada, pode-se observar hidronefrose e hidroureter, além de sinais relacionados à uremia (Daleck; De Nardi, 2017; Feliciano, 2019). As análises por imagem podem identificar as massas tumorais e investigar sua invasão e extensão (Feliciano, 2019).

A ultrassonografia é a melhor opção para diagnosticar problemas urinários em cães, permitindo avaliar a bexiga e detectar cálculos, tumores e infecções. É essencial no estudo do trato urinário dos animais. (Robotti e Lanfranchi, 2013; Dinesh et al., 2015). Identificar espessamento da parede da bexiga ou lesões de massa no trato urinário pode aumentar a suspeita de carcinoma urotelial, mas não constitui um diagnóstico definitivo (Fulkerson e Knapp, 2015).

A bexiga normal localiza-se cranialmente à pelve, ultrassonograficamente, no modo-B apresenta paredes ecogênicas e preenchida por conteúdo anecogênico, a urina (Figura 1) (Léveillé, 1998; Kealy, 2012). A forma da bexiga urinária varia entre os cães e muda com o grau de distensão e a quantidade de pressão aplicada ao abdome pelo ultrassonografista (Léveillé, 1998). A parede da bexiga é visualizada como duas linhas finas, paralelas e hiperecogênicas, separadas por uma linha

hipoecogênica: (1) interface hiperecogênica serosa/gordura perivascular; (2) camada muscular hipoecogênica; e (3) linha hiperecogênica da lâmina própria submucosa paralela à superfície da mucosa (Léveillé, 1998). No exame ultrassonográfico, a visualização clara das camadas mucosa e submucosa da bexiga urinária é mais fácil quando a bexiga está parcialmente vazia e sem distensão excessiva, evitando distorção da imagem. Portanto, para uma avaliação mais precisa das camadas mucosa e submucosa, é ideal que a bexiga esteja em um estado de distensão moderada (Léveillé, 1998; Hanazono et al., 2014; Feliciano, 2019).

A espessura da parede da bexiga varia conforme o grau de distensão e o peso corporal do cão, sendo em média 2,3 mm quando minimamente distendida (0,5 mL/kg de soro fisiológico) e 1,4 mm quando moderadamente distendida (4 mL/kg de soro fisiológico) (Léveillé, 1998). A bexiga é mais bem examinada quando repleta de urina e deve ser analisada nos planos transversal e sagital (Feliciano, 2019). Quando a bexiga está distendida, apresenta margens regulares, parede fina e conteúdo anecoico com reforço posterior (Feliciano, 2019).



Figura 1 – Imagem ultrassonográfica modo-B de bexiga de um cão sem afecções urinárias, com mensuração de diferentes regiões da parede (1.0 e 1.1mm) e com conteúdo anecogênico no interior, sendo possível diferenciar as camadas da parede

em mucosa (mais interna), submucosa, muscular (linha hipoeecogênica) e serosa. PB: parede da bexiga.

O fato de ser uma técnica amplamente difundida e de ser rápida e barata são as vantagens de sua utilização, bem como a possibilidade de realização de coletas de amostras como a cistocentese (Robotti e Lanfranchi, 2013). Porém, exame ultrassonográfico modo-B apresenta divergência na interpretação de achados devido à análise subjetiva, sendo importante quantificar ecogenicidade e ecotextura (Peixoto et al., 2010).

2.2.7.2. Elastografia

Dentre as técnicas ultrassonográficas, a elastografia é um método avançado que permite avaliar a rigidez do tecido alvo, fornecendo informações clinicamente relevantes associadas a esta característica física (Gennisson, et al., 2013; Li e Cao, 2017). Diversas técnicas para avaliação da elasticidade tecidual foram propostas, como a *Elastografia Strain* (compressiva), *Elastografia Shear Wave* em Tempo Real (Real-time Shear Wave Elastography) e Elastografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) (Dudea et al., 2011).

A ARFI utiliza uma sequência de impulsos acústicos que promovem a deformidade do tecido avaliado em uma área específica de interesse, repetidamente, para obter um pico de deslocamento tecidual, gerando um mapeamento bidimensional estático da rigidez tecidual relativa (elastograma), permitindo a avaliação qualitativa da rigidez do tecido em estudo (Dewall et al., 2013; Gennisson, et al., 2013; Goddi et al., 2012; Nightingale et al., 2001). Por meio da ARFI quantitativa, a velocidade de propagação das ondas de cisalhamento, geradas pelo impulso de força de radiação acústica, é estimada na região de interesse e fornecida em metros por segundo (m/s) (Bota, et al., 2013; Dewall, et al., 2013; Gennisson, et al., 2013).

Ao avaliar um paciente, o profissional médico veterinário precisa utilizar das técnicas básicas de exame físico como a inspeção, ausculta, olfato, percussão e palpação, sendo um procedimento padrão para o diagnóstico clínico (Nowicki e Dobruch-Sobczak, 2016). A palpação é uma técnica de diagnóstico antiga, com

registros de sua utilização desde o século XVII a.C., registrado no Papiro Cirúrgico Edwin Smith, um dos mais antigos papiros médicos (Wilkins, 1864; Bamber et al., 2013).

A possibilidade da utilização de uma técnica tátil é extremamente interessante e fornece boas informações sobre algumas estruturas (Palmeri e Nightingale, 2011; Bamber et al., 2013). No entanto, sua aplicação é limitada a órgãos e estruturas acessíveis e superficiais, fornecendo identificação limitada da doença, bem como uma discriminação espacial imprecisa, e a interpretação da informação é subjetiva (Bamber et al., 2013). Ao pressionar a pele do paciente e os órgãos internos que estão abaixo dela, durante a realização da palpação, é possível sentir sua dureza, mobilidade e pulsação (Nowicki e Dobruch-Sobczak, 2016).

A palpação manual é utilizada para avaliar qualitativamente a saúde do tecido devido à correlação que frequentemente existe entre a elasticidade do tecido e o estado patológico, a observação de nódulos rígidos estão geralmente associados a neoplasias (Dewall, 2013). Durante a palpação realizada pelo profissional, a tensão tecidual é apenas uma aproximação da rigidez sentida: uma baixa tensão tecidual corresponde a uma alta rigidez do tecido e vice-versa (Nowicki e Dobruch-Sobczak, 2016).

Para órgãos internos com formas geométricas simples, a relação tensão-deformação, assumindo que ambos os valores são conhecidos, é o módulo de elasticidade (Nowicki e Dobruch-Sobczak, 2016). Com essas informações, a elasticidade pode servir como um biomarcador de doença do tecido (DEWALL, 2013).

A elasticidade de um material descreve a sua capacidade de retornar ao equilíbrio, ou seja, à sua forma original, após ser submetido à uma força ou à uma tensão de deformação (Nowicki e Dobruch-Sobczak, 2016). A mudança no tamanho ou forma é chamada de deformação. A deformação é produzida pela força que atua em uma superfície específica – essa força é conhecida como tensão (Nowicki e Dobruch-Sobczak, 2016).

Como a palpação demanda contato direto e só é possível ser aplicada em órgãos superficiais, há a necessidade de técnicas que possam ser aplicadas em órgãos profundos, e novas possibilidades diagnósticas (Gennisson et al., 2013).

Com o intuito de preencher essa lacuna no diagnóstico por imagem, utiliza-se a elastografia que, como definição, é a ciência de criar imagens não invasivas de características mecânicas de tecidos, com o intuito de superar as limitações da palpação manual realizada pelo profissional e tem evoluído rapidamente nos últimos anos (Bamber et al., 2013). O método chamado elastografia é baseado na compressão externa do tecido, com cálculo subsequente do perfil de deformação ao longo do eixo do transdutor, que é derivado da análise de correlação cruzada de pares de linhas pré e pós-compressão (Ophir et al., 1991).

O ultrassom pode fornecer informações sobre propriedades elásticas do tecido, complementares às de outras técnicas de imagem, úteis para aplicações médicas (Sarvazyan et al., 1995). A imagem de elasticidade é baseada em dois processos, avaliando a resposta mecânica de um tecido estressado usando modalidades de imagem, e representando as propriedades elásticas das estruturas internas do tecido pela solução matemática do problema mecânico inverso (Sarvazyan et al., 1995).

As propriedades elásticas são utilizadas para medir a dureza do tecido e são essas medidas que podem auxiliar na diferenciação entre tecidos normais e anormais. Sob o ponto de vista físico, essas medidas são obtidas com base a variação no módulo elástico de cisalhamento (ou de Young), propagação das ondas de cisalhamento (Sarvazyan et al., 1995; Palmeri e Nightingale, 2011).

A elastografia tem como objetivo visualizar de maneira quantitativa o Módulo de Young (E), que é o parâmetro físico que representa a rigidez dos tecidos. Clinicamente, duas vantagens principais são observadas: primeiro, o Módulo de Young apresenta variações significativas entre diferentes tecidos biológicos, proporcionando uma excelente base para a caracterização dos tecidos; segundo o Módulo de Young mede a rigidez do tecido, refletindo de forma quantitativa a palpação manual realizada pelo clínico e oferecendo valor diagnóstico relevante. Assim, a elastografia permite a transição de uma análise subjetiva, baseada na palpação manual, para uma análise objetiva, utilizando tecnologia avançada (Sarvazyan et al., 1995; Gennisson et al., 2013).

Apesar de muitas técnicas elastográficas basearem-se no Módulo de Young (E) ou utilizarem seu valor para obter informações, outros parâmetros também são

utilizados para caracterizar as propriedades mecânicas dos materiais sólidos. Entre esses parâmetros estão o módulo de compressão em massa (K), o módulo de cisalhamento (G) e o índice de Poisson (ν) (Sarvazyan et al., 1995). Para avaliar o Módulo de Young do tecido, todas as técnicas de elastografia partem do mesmo princípio básico: uma força externa é aplicada ao tecido e os movimentos resultantes são então monitorados (Sarvazyan et al., 1995; Gennisson et al., 2013).

Outro aspecto relevante é que todos os sistemas comerciais de elastografia atuais necessitam medir o deslocamento do tecido. No entanto, as técnicas diferem na forma como utilizam essas medições. Algumas técnicas obtêm o deslocamento diretamente, enquanto outras medem o tempo de chegada das ondas de cisalhamento para calcular a velocidade dessas ondas. A velocidade das ondas é então usada para inferir a rigidez do tecido (Bamber et al., 2013; Tozaki et al. 2013).

Para a Federação Europeia de Ultrassom em Medicina e Biologia (EFSUMB), a elastografia é dividida em dois métodos principais, o método quase-estático e método dinâmico. Dentre os métodos quase-estáticos estão a Elastografia de deformação (SE) e Imagem de taxa de deformação (SRI). Em relação aos métodos dinâmicos, foram descritas a Imagem de impulso de força de radiação acústica (ARFI), a Elastografia transitória (TE), Elastografia de onda de cisalhamento pontual (pSWE), Elastografia de onda de cisalhamento (SWE, 2 D SWE ou 3 D SWE) (Bamber et al., 2013; Gennisson et al., 2013; Cosgrove et al., 2013).

A World Federation of Ultrasound Medicine and Biology divide as técnicas de elastografia em três categorias principais de acordo com seus diferentes processos: (1) elastografia de deformação (SE) avalia a deformação do tecido por compressão manual ou movimento fisiológico; (2) elastografia transitória (TE) gera uma onda de cisalhamento com uma vibração externa; e (3) impulso de força de radiação acústica (ARFI) é um método que usa força de radiação acústica para produzir ondas de cisalhamento. As técnicas ARFI podem ser ainda classificadas em técnicas de elastografia de onda de cisalhamento pontual (p-SWE), elastografia de onda de cisalhamento 2D (2D SWE) e elastografia de onda de cisalhamento 3D (3D SWE). A SE mede a deformação, enquanto as técnicas baseadas em onda de cisalhamento (incluindo técnicas TE e ARFI) medem a velocidade das ondas de cisalhamento nos tecidos (Cui et al., 2022).

Com exceção da elastografia transitória (TE), a elastografia utiliza imagens ultrassônicas para analisar a deformação do tecido sob cisalhamento. Essa deformação é representada em um elastograma, que exhibe diretamente o deslocamento do tecido. Um exemplo de técnica que aplica esse princípio é a imagem de impulso de força de radiação acústica (ARFI) (Bamber et al., 2013).

2.2.7.3. Elastografia ARFI (*Acoustic Radiation Force Impulse*)

Com o intuito de unir as vantagens da ultrassonografia e a importância da palpação em um novo método que fornecesse informações mais detalhadas na área da medicina, foi proposto um método de palpação remota ou virtual. (Nightingale et al., 2001; Gennisson et al., 2013; DeWall, 2013). A técnica ARFI utiliza um feixe acústico curto e de alta intensidade de maneira focalizada para "empurrar" o tecido. Pulsos de rastreamento capturam a resposta do tecido até que ele retome sua forma original após a aplicação da pressão (Nightingale et al., 2001; Gennisson et al., 2013; DeWall, 2013; Hu et al., 2015; Ha e Cho, 2016).

A Quantificação Tecidual Virtual Touch ou Quantificação da Velocidade da Onda de Cisalhamento (VTQ) foi a primeira técnica disponível desenvolvida para implementar ARFI. O método foi introduzido usando o scanner de US comercial Acuson S2000™ (Siemens Healthcare, Erlangen, Alemanha) e oferece a possibilidade de realizar medições quantitativas da elasticidade do tecido (Zhang et al., 2014; Xu et al., 2014; Hu et al., 2015; Ha e Cho, 2016). A técnica permite a análise quantitativa da rigidez do tecido sem que haja uma compressão externa (Friedrich-Rust et al., 2012; Gennisson et al., 2013; DeWall, 2013; Hu et al., 2015). Esses deslocamentos localizados provocados no tecido produzem ondas de cisalhamento na região de interesse (ROI) e o transdutor faz o rastreamento dessa onda de cisalhamento (Sarvazyan et al., 1995; Zhang et al., 2014; Cheng et al., 2015).

O cálculo da velocidade da onda de cisalhamento é expresso em m/s, sendo essa velocidade uma característica intrínseca e reproduzível do tecido. Dessa forma, a medição utilizando ARFI fornece dados objetivos e consistentes. O VTQ permite obter medidas numéricas dessa velocidade, que é proporcional à raiz quadrada da

elasticidade do tecido. Assim, o VTQ quantifica a elasticidade do tecido de forma precisa (Zhang et al., 2014). Na medicina, o VTQ é utilizado para diferenciar lesões benignas e malignas em vários tecidos, fornecendo dados quantitativos sobre a dureza e consistência do tecido, com alto valor preditivo (Xu et al., 2014; Liu et al., 2015; Ha e Cho, 2016;).

Outras técnicas disponíveis desenvolvidas para implementar a tecnologia ARFI foi a imagem de tecido de toque virtual (VTI), e mais recentemente a imagem e quantificação de tecido de toque virtual (VTIQ) (Friedrich-Rust et al., 2012; Hu et al., 2014; Zhang et al., 2014; Ha e Cho, 2016; Sun et al., 2017). A tecnologia VTQ ARFI tem limitações, como a falta de mapa de rigidez 2D, ROI fixo e faixa limitada de medição da velocidade da onda de cisalhamento (SWV), não sendo adequada para tecidos muito duros ou moles. Em contrapartida, o método VTIQ ARFI pode superar essas limitações, oferecendo uma descrição mais precisa da elasticidade do tecido (Tozaki et al. 2013; Tang et al., 2015; Sun et al., 2017).

A técnica de onda de cisalhamento VTIQ utiliza múltiplos pulsos de pressão aplicados em diferentes profundidades para gerar um elastograma que exibe a rigidez tecidual com base na velocidade da onda de cisalhamento. Este método permite medir a velocidade da onda de cisalhamento entre 0,5 e 10 m/s em diversas áreas do corpo, possibilitando a colocação de múltiplas ROI na mesma imagem gerada (Tozaki et al. 2013; Bamber et al., 2013 Cheng et al., 2015). Comparada a outras técnicas elastográficas, a VTIQ (Quantificação da Velocidade de Cisalhamento) oferece informações mais precisas e reduz a incidência de medições inválidas. O elastograma gerado por essa técnica exibe a distribuição da velocidade de onda de cisalhamento (SWS) em cores, utilizando ROIs menores que permitem medições mais detalhadas e precisas (Cheng, et al., 2016; Sun et al., 2017).

No modo de qualidade SW VTIQ, é gerado um mapa de qualidade, no qual a imagem é representada por cores indicativas de qualidade: verde para alta, amarelo para intermediária e vermelho para baixa (Tozaki et al. 2013; Tang et al., 2015; Cheng, et al., 2016). No modo velocidade SW uma Região de Interesse (ROI) é colocada nas áreas verdes para medição eficaz, evitando áreas amarelas ou vermelhas (Tozaki et al. 2013; Tang et al., 2015; Cheng, et al., 2016). A ROI pode ter apenas 1,1 mm e é adequada até mesmo para lesões pequenas. Já no modo de

velocidade VTIQ, a distribuição de velocidade na lesão é representada em cores diferentes: vermelho para alta, amarelo ou verde para intermediária e azul para baixa velocidade SWV (Tozaki et al. 2013; Tang et al., 2015; Cheng, et al., 2016).

Atualmente, os estudos na medicina e na medicina veterinária buscam pelo registro do que é característico da elasticidade dos diferentes tecidos, assim é possível comparar e analisar o fator diagnóstico da elastografia ARFI em relação aos tecidos afetados por diferentes patologias (Nowicki e Dobruch-Sobczak, 2016).

2.2.7.4. Aplicabilidade da elastografia ARFI na Medicina Veterinária

São várias aplicabilidades da elastografia ARFI na Medicina Veterinária já demonstrada em estudos, principalmente em relação na área de Oncologia Veterinária, como é o caso das neoplasmas mamárias, hepáticos, esplênicos, cutâneos, prostáticos e testiculares e linfonodos (Heide et al., 2010; Feliciano et al., 2014; Barella; Lodi; Faverzani, 2016; Feliciano et al., 2017; Silva et al., 2018; Choi; Yoon; Choi, 2019; Cintra et al., 2020; Huaijantug et al., 2020; Cruz et al., 2022; Maronezi et al., 2022).

Em estudo preliminar verificou-se que a elastografia aumenta a sensibilidade na detecção de heterogeneidade tecidual e tumores malignos versus benignos quando na análise quantitativa a elastografia ARFI verificou que os valores da velocidade de cisalhamento nas neoplasias malignas foram maiores do que nas massas benignas (Feliciano et al., 2014). Em outro estudo aplicando-se a elastografia ARFI em 153 cadelas que apresentavam formações em regiões mamárias, apresentou resultado impressionante como método de predição ultrassonográfica de malignidade, permitindo avaliação quantitativa da rigidez dos tecidos. O estudo resultou na estimativa da velocidade da onda de cisalhamento com valores de corte acima de 2,57 m/s e uma acurácia diagnóstica de 95% (Feliciano et al., 2017).

Quanto aos neoplasmas hepáticos, a elastografia por compressão foi aplicada em vinte e oito cães com a afecção e avaliada pelo modo qualitativo (padrão de cores vermelho-verde-azul – RGB) dos histogramas gerados e então analisados utilizando o Image J. Observaram os neoplasmas hepáticos apresentavam a cor azul mais elevada, o que significa que a rigidez tecidual aumenta (Huaijantug et al.,

2020). Na medicina, um estudo alemão aplicou a técnica de elastografia ARFI para avaliar lesões hepáticas focais em 81 pacientes, observou que as lesões hepáticas focais estão regularmente associadas a valores mais elevados de velocidade da onda de cisalhamento do que o parênquima hepático circundante, mas não foi possível caracterizar ou diferenciá-los como benignos ou malignos (Heide et al., 2010).

A elastografia por compressão foi utilizada para avaliação de lesões esplênicas de até 4cm de largura e a mesma largura de parênquima sem a lesão e profundidade máxima de 4cm. Neste estudo avaliaram o valor da rigidez tecidual pelo percentual da lesão esplênica considerada rígida, obtendo o percentual igual ou superior à 70% para as lesões malignas, e o índice de elasticidade do tecido calculado como a razão entre a área de parênquima livre de lesão e a área da lesão, obtiveram valores igual ou superior a 1,5 para as lesões malignas (Barella; Lodi e Faverzani, 2016). Para a avaliação dos neoplasmas esplênicos a elastografia ARFI possui acurácia diagnóstica de 97% com velocidade de onda de cisalhamento $> 2,6$ m/s para lesões esplênicas malignas em cães. A técnica apresenta sensibilidade de 95%, especificidade de 100%, valor preditivo positivo de 100%, valor preditivo negativo de 94% e acurácia de 97%, reforçando que a elastografia ARFI é uma técnica promissora para diferenciar malignidade em lesões (Maronezi et al., 2022).

Outra aplicação da técnica de elastografia ARFI está na predição de malignidade de neoplasmas cutâneos e subcutâneos em cães, associando tecidos não deformáveis e velocidade de onda de cisalhamento $>3,52$ m/s à malignidade (Cruz et al., 2022).

Na avaliação de linfonodos axilares e inguinais em cadela com neoplasia mamária, aplicando a elastografia ARFI, os linfonodos metastáticos apresentaram menor deformabilidade e maior velocidade das ondas de cisalhamento que os linfonodos não metastáticos (Silva et al., 2018). Com valor da velocidade da onda de cisalhamento (SWV) $>2,5$ m/s (sensibilidade de 95% e especificidade de 87%) para linfonodos metastáticos (Silva et al., 2018).

A aplicação da técnica de elastografia por compressão foi usada para predição de malignidade de linfonodos mandibulares onde os valores médios do histograma e as proporções da área de rigidez foram significativamente diferentes

entre os linfonodos metastáticos e os linfonodos não metastáticos e clinicamente saudáveis (Choi; Yoon; Choi, 2019). Os linfonodos clinicamente saudáveis e não metastáticos apresentavam padrão elastográfico de grau 1 ou 2 (grau 1 indica rigidez ausente ou muito baixa; grau 2 indica área rígida compreendendo <50% do linfonodo), refletindo uma elasticidade relativamente suave. Os linfonodos metastáticos eram em sua maioria grau de dureza 3 ou 4 (grau 3 indica área rígida compreendendo >50%), refletindo uma elasticidade relativamente rígida, com um falso-negativo (Choi; Yoon; Choi, 2019).

A avaliação prostática por meio da aplicação da elastografia ARFI mostrou que em SWV maior ou igual a 2,35 m/s é preditivo de doença prostática, com sensibilidade de 84,4%, especificidade de 68,2% e acurácia de 70,1% (Cintra et al., 2020). Outros estudos foram realizados na medicina veterinária, como a padronização dos valores de referência para a elastografia ARFI de rins em gatos saudáveis (Garcia et al., 2015). Avaliação por elastografia ARFI em neoplasmas mamários em duas gatas (Feliciano et al., 2015). Padronização dos valores de referência e características de rigidez tecidual para a elastografia ARFI da adrenal em cães saudáveis (Fernández et al., 2017). Avaliação da musculatura periarticular do quadril em cães displásicos e não displásicos (Carneiro et al., 2023).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico é crucial para o avanço da medicina veterinária, especialmente na oncologia, onde a detecção precoce e precisa de neoplasias pode influenciar significativamente o tratamento e o prognóstico. A elastografia ARFI representa inovação promissora neste campo, particularmente no diagnóstico de neoplasias como o carcinoma urotelial em cães. Sua capacidade de medir a rigidez do tecido de forma não invasiva oferece nova dimensão às abordagens diagnósticas tradicionais, aumentando potencialmente a precisão na diferenciação entre tecidos neoplásicos e normais.

Embora os resultados iniciais na medicina sejam encorajadores, a aplicação da elastografia ARFI na avaliação da bexiga na medicina veterinária ainda é uma área emergente. A crescente necessidade de pesquisas nesta área visa estabelecer sua eficácia e explorar seu potencial clínico. Avanços contínuos neste campo podem não apenas melhorar o diagnóstico e o tratamento do carcinoma urotelial em cães, mas também levar ao desenvolvimento de abordagens diagnósticas mais refinadas e menos invasivas para outras neoplasias animais.

Esta revisão destaca a importância de explorar tecnologias avançadas como a elastografia ARFI na prática veterinária. Com estudos adicionais e validações clínicas, a elastografia ARFI tem o potencial de se tornar uma ferramenta essencial, contribuindo significativamente para a saúde e o bem-estar animal.

REFERÊNCIAS

- Augusto, A. Q., & Pachaly, J. R. (2000). Princípios físicos da ultra-sonografia-Revisão bibliográfica. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, 3(1).
- Bamber, J., Cosgrove, D., Dietrich, C. F., Fromageau, J., Bojunga, J., Calliada, F., ... & Piscaglia, F. (2013). EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical use of ultrasound elastography. Part 1: Basic principles and technology. **Ultraschall in der Medizin-European Journal of Ultrasound**, 34(02), 169-184.
- Barella, G; Lodi, M; Faverzani S (2016) Role of strain elastography in differentiating malignant hypoechoic splenic lesions in dogs: Preliminary results. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**.
- Bota S, Herkner H, Sporea I, Salzl P, Sirli R, Neghina AM, Peck-Radosavljevic M (2013) Meta-analysis: ARFI elastography versus transient elastography for the evaluation of liver fibrosis. **Liver International**, v. 33:1138-1147.
- Burnie, A. G.; Weaver, A. D. (1983). Urinary bladder neoplasia in the dog; a review of seventy cases. **Journal of Small Animal Practice**, 24(3), 129-143.
- Camillo, C. D. S., Moura, S. A. B. D., Cardoso, C. C. D. N. D., & Medeiros, F. B. D. (2017). Caderno de histologia: texto e atlas.
- Carneiro, R. K.; da Cruz, I. C. K.; Gasser, B.; Lima, B.; Aires, L. P. N.; Ferreira, M. P.; Feliciano, M. A. R (2023) B-mode ultrasonography and ARFI elastography of articular and peri-articular structures of the hip joint in non-dysplastic and dysplastic dogs as confirmed by radiographic examination. **BMC Veterinary Research**, v. 19: 181.
- Cheng, K. L., Choi, Y. J., Shim, W. H., Lee, J. H., & Baek, J. H. (2016). Virtual Touch Tissue Imaging Quantification Shear Wave Elastography: Prospective Assessment of Cervical Lymph Nodes. **Ultrasound in Medicine & Biology**, 42(2), 378–386.
- Childress MO, Adams LG, Ramos-Vara J A, Freema LJ, He S, Constable PD, Knapp DW (2011). Results of biopsy via transurethral cystoscopy and cystotomy for diagnosis of transitional cell carcinoma of the urinary bladder and urethra in dogs: 92 cases (2003-2008). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. 239:350-6. Doi: 10.2460/javma.239.3.350.
- Choi M, Yoon J, Choi M (2019) Semi-quantitative strain elastography may facilitate pre-surgical prediction of mandibular lymph nodes malignancy in dogs. **Journal of Veterinary Science**, v. 20.
- Cintra CA, Feliciano MAR, Santos VJC, Maronezi MC, Cruz IK, Gasser B, Uscategui RAR (2020) Applicability of ARFI elastography in the evaluation of canine prostatic

alterations detected by b-mode and Doppler Ultrasonography. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72: 2135-2140.

Cosgrove, D., Piscaglia, F., Bamber, J., Bojunga, J., Correias, J. M., Gilja, O. A., ... & Dietrich, C. F. (2013). EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical use of ultrasound elastography. Part 2: Clinical applications. **Ultraschall in der Medizin-European Journal of Ultrasound**, 34(03), 238-253.

Cruz ICK, Carneiro RK, De Nardi AB, Uscategui RAR, Bortoluzzi EM, Feliciano MAR (2022). Malignancy prediction of cutaneous and subcutaneous neoplasms in canines using B-mode ultrasonography, Doppler, and ARFI elastography. **BMC Veterinary Research**. 18:1-13.

Cui, X. W., Li, K. N., Yi, A. J., Wang, B., Wei, Q., Wu, G. G., & Dietrich, C. F. (2022). Ultrasound elastography. **Endoscopic ultrasound**, 11(4), 252-274.

Daleck CR, De Nardi AB (2017) **Oncologia em cães e gatos**. 2 ed. Rio de Janeiro : Roca, 2017.

De Brot. S.; Robinson, B. D.; Scase, T.; Grau Roma, L., Wilkinson, E.; Boorjian, S. A.; Mongan, N. P. (2018). The dog as an animal model for bladder and urethral urothelial carcinoma: Comparative epidemiology and histology. **Oncology Letters**, 16:1641-1649. Doi: <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8837>.

Dede, O.; Teke, M.; Daggulli, M.; Penbegül, N. (2018) Use of Acoustic Radiation Force Impulse Elastography to Discrimination Benign and Malignant Masses for Bladder. **Int J Radiol Imaging Technol**, v. 4:039.

Denkhaus, H.; Crone-Münzebrock, W.; Huland, H. (1985) Noninvasive ultrasound in detecting and staging bladder carcinoma. **Urologic radiology**, 7:121. Doi: <https://doi.org/10.1007/BF02926870>.

Dewall, R. J. (2013) Ultrasound elastography: principles, techniques, and clinical applications. **Critical Reviews™ in Biomedical Engineering**, v. 41(1).

Dudea, S. M.; Giurgiu, C. R.; Dumitriu, D.; Chiorean, A.; Ciurea, A.; Coman, I. (2011) Value of ultrasound elastography in the diagnosis and management of prostate carcinoma. **Medical ultrasonography**, v. 13:45-53.

Durmaz M, Yorulmaz A, Durmaz FG, Arslan S (2021) Utilidade da elastografia por onda de cisalhamento bidimensional para avaliação da parede da bexiga em crianças com cistite aguda. **J. Ultrassom Med**. 40:1105–1111. Doi: <https://doi.org/10.1002/jum.15486>.

Eurell, J. A.; Frappier, B. L. (2012). **Histologia veterinária de Dellmann**. Tradução: Fernando Gomes do Nascimento.

Feliciano MAR, Maronezi MC, Pavan L, Castanheira TL, Simões APR, Carvalho CF, Vicente WRR (2014) ARFI elastography as a complementary diagnostic method for mammary neoplasia in female dogs—preliminary results. *Journal of Small Animal Practice*, v. 55:504-508.

Feliciano MAR, Uscategui RAR, Maronezi MC, Simões APR, Silva P, Gasser, B, Vicente WRR (2017) Ultrasonography methods for predicting malignancy in canine mammary tumors. **PloS one**, v. 12:e0178143.

Feliciano MAR (2019) **Ultrassonografia em Cães e Gatos**. São Paulo: MedVet, 752p. ISBN: 987-85-62451-58-4.

Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM (2010) Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN. **International journal of cancer**, 127:2893-2917.

Fernandez S, Feliciano MAR, Borin-Crivellenti S, Crivellenti LZ, Maronezi MC, Simões APR, Vicente WRR (2017) Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of adrenal glands in healthy adult dogs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 69:340-346.

Fulkerson CM, Knapp DW (2015) Management of transitional cell carcinoma of the urinary bladder in dogs: A review. **The Veterinary Journal**, 205:217–225. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.01.017>

Friedrich-Rust, M., Romenski, O., Meyer, G., Dauth, N., Holzer, K., Grünwald, F., ... & Bojunga, J. (2012). Acoustic Radiation Force Impulse-Imaging for the evaluation of the thyroid gland: a limited patient feasibility study. **Ultrasonics**, 52(1), 69-74.

Garcia, P. H. S.; Feliciano, M. A. R.; Carvalho, C. F.; Crivellenti, L. Z.; Maronezi, M. C.; Almeida, V. T.; Vicente, W. R. R. (2015) Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of kidneys in healthy adult cats: preliminary results. **Journal of Small Animal Practice**, v. 56:505-509.

Gennisson, J. L., Deffieux, T., Fink, M., & Tanter, M. (2013). Ultrasound elastography: principles and techniques. **Diagnostic and interventional imaging**, 94(5), 487-495.

Goddi A, Bonardi M, Alessi S (2012) Breast elastography: a literature review. **Journal of ultrasound**, v. 15:192-198.

Ha, S. M.; Cho, S. W. (2016). Virtual touch tissue quantification in the differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules. **Journal of the Korean Society of Radiology**, 74(6), 365-372.

Hu, Z.; Luo, J.; Wei, H.; Ou, W.; Xiao, S.; Gan, M.; Liu, J. (2015). Correlation of virtual touch tissue quantification and liver biopsy in a rat liver fibrosis model. **Molecular Medicine Reports**, 11(5), 3694-3700.

Hanazono K, Fukumoto S, Endo Y, Ueno H, Kadosawa T, Uchide T (2014) Ultrasonographic findings related to prognosis in canine transitional cell carcinoma. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, 55:79-84. Doi: 10.1111/vru.12085.

Heide R, Strobel D, Bernatik T, Goertz R (2010) Characterization of Focal Liver Lesions (FLL) with Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) Elastometry. *Ultraschall in der Medizin*. **European Journal of Ultrasound**, 31:405–409. doi:10.1055/s-0029-1245565.

Huaijantug S, Yatmark P, Phophug P, Worapakdee M, Phutrakul A, Julapanthong P, Chuaychoo K (2020) Quantitative ultrasound elastography and serum ferritin level in dogs with liver tumors. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 7:575, 2020.

Huang XZ, Zhou AY, Liu MW, Zhang Y, Xu P (2021) Shear Wave Elasticity Differentiation Between Low-and High-Grade Bladder Urothelial Carcinoma and Correlation With Collagen Fiber Content. **Journal of Ultrasound in Medicine**, v. 40:113-122.

Kealy, J. K. (2012) **Radiologia e ultrassonografia do cão e do gato**. Rio de Janeiro : Elsevier.

Knapp DW, McMillan SK (2013) **Tumores do sistema urinário**. In: Withrow e MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 5Ed., Elsevier-Saunders, p. 572-582. Doi: 10.1016/B978-1-4377-2362-5.00029-3.

Knapp DW, Ramos-Vara JA, Moore GE, Dhawan D, Bonney PL, Young KE (2014) Urinary Bladder Cancer in Dogs, a Naturally Occurring Model for Cancer Biology and Drug Development. **ILAR Journal**, Vol. 55. Doi: 10.1093/ilar/ilu018

Knapp, D. W.; Glickman, N. W.; DeNicola, D. B.; Bonney, P. L.; Lin, T. L.; Glickman, L. T. (2000) Naturally-occurring canine transitional cell carcinoma of the urinary bladder: A relevant model of human invasive bladder cancer, In **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**. Vol. 5:47-59, Elsevier.

König, H. E. (2016) **Anatomia dos animais domésticos** : texto e atlas colorid. 6. ed. – Porto Alegre : Artmed.

Léveillé, R. (1998) Ultrasonography of Urinary Bladder Disorders. **Abstract Only**. Vol. 28:799-821. Doi: 10.1016/S0195-5616(98)50079-4.

Li, G. Y.; Cao, Y. (2017) Mechanics of ultrasound elastography. **Proc. R. Soc. A** 473. Doi: 10.1098/rspa.2016.0841.

Liu, B. J.; Xu, H. X.; Zhang, Y. F.; Xu, J. M.; Li, D. D.; Bo, X. W.; Qu, S. (2015). Acoustic radiation force impulse elastography for differentiation of benign and

malignant thyroid nodules with concurrent Hashimoto's thyroiditis. **Medical oncology** **Medical oncology**, 32, 1-9.

Maronezi, M.C., Carneiro, R. K.; Da Cruz, I.C.K.; De Oliveira, A. P. L.; De Nardi, A. B.; Pavan, L.; Feliciano, M. A. R. (2022) Accuracy of B-mode ultrasound and ARFI elastography in predicting malignancy of canine splenic lesions. **Scientific Reports**, 12:4252.

Mochizuki H, Kennedy K, Shapiro SG, Breen M (2015a) Mutações BRAF em cânceres caninos. **PloS um**, 10: e0129534.

Mochizuki H, Breen (2015b) Comparative aspects of BRAF mutations in canine cancers. **Veterinary sciences**, v. 2:231-245.

Nightingale, K. R., Palmeri, M. L., Nightingale, R. W., & Trahey, G. E. (2001). On the feasibility of remote palpation using acoustic radiation force. **The Journal of the Acoustical Society of America**, 110(1), 625-634.

Naughton JF, Widmer WR, Constable PD, Knapp DW (2012) Accuracy of three-dimensional and twodimensional ultrasonography for measurement of tumor volume in dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. **American journal of veterinary research**. Vol 73. Doi: <https://doi.org/10.2460/ajvr.73.12.1919>.

Norris AM, Laing EJ, Valli VE, Withrow SJ, Macy DW, Ogilvie GK, Jacobs RM (1992) Canine bladder and urethral tumors: a retrospective study of 115 cases (1980–1985). **Journal of veterinary Internal medicine**, v. 6:145-153.

Nowicki, A., & Dobruch-Sobczak, K. (2016). Wprowadzenie do ultradźwiękowej elastografii. **Journal of Ultrasonography**, 16(65), 113-124.

Owen, L. N.; World Health Organization. (1980). **TNM Classification of Tumours in Domestic Animals** / edited by LN Owen (No. VPH/CMO/80.20). World Health Organization.

Papaléo, R. M.; de Souza, D. S. (2019). Ultrassonografia: princípios físicos e controle da qualidade. **Revista Brasileira De Física Médica**.

Park, H.; Park, J. Y.; Ahn, S. H.; Chon, C. Y.; Han, K. H.; Kim, S. U. (2013) Characterization of focal liver masses using acoustic radiation force impulse elastography. **World journal of gastroenterology**, 19:219–226. Doi: 10.3748/wjg.v19.i2.219.

Peixoto, G. C. X.; Lira, R. A.; Alves, N. D.; Silva, A. R. (2010). Bases físicas da formação da imagem ultrassonográfica. **Acta Veterinaria Brasilica**, 4(1), 15-24.

Palmeri, M. L.; Nightingale, K. R. (2011). Acoustic radiation force-based elasticity imaging methods. **Interface focus**, 1(4), 553-564.

Ophir, J., Cespedes, I., Ponnekanti, H., Yazdi, Y., & Li, X. (1991). Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. **Ultrasonic imaging**, 13(2), 111-134.

Qian, M.; Jiang, D.; Su, C.; Wang, X.; Zhao, X.; Yang, S. (2019) Value of Real-Time Shear Wave Elastography Versus Acoustic Radiation Force Impulse Imaging in the Diagnosis of Female Bladder Neck Obstruction. **Journal of Ultrasound in Medicine**, v. 38:2427-2435.

Reine, N. J.; Langston, C. E. (2005) Urinalysis interpretation: How to squeeze out the maximum information from a small sample. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, vol. 20:2-10. Doi: 10.1053/j.ctsap.2004.12.002.

Robotti, G.; Lanfranchi, D. (2013) Urinary tract disease in dogs: US findings. A mini-pictorial essay. **J Ultrasound**. 14;16(2):93-6. doi: 10.1007/s40477-013-0012-2.

Rocha, T. A.; Mauldin, G. N.; Patnaik, A. K.; Bergman, P. J. (2000) Prognostic Factors in Dogs with Urinary Bladder Carcinoma, **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 14:486–490. Doi: 10.1111/j.1939-1676.2000.tb02263.x.

Sarvazyan, A. P., Skovoroda, A. R., Emelianov, S. Y., Fowlkes, J. B., Pipe, J. G., Adler, R. S., ... Carson, P. L. (1995). Biophysical Bases of Elasticity Imaging. **Acoustical Imaging**, 223–240. doi:10.1007/978-1-4615-1943-0_23

Shin, S. J.; Jeong, B. J. (2013). Principle and comprehension of ultrasound imaging. **Journal of the Korean Orthopaedic Association**, 48(5), 325-333.

Silva, P.; Uscategui, R. A. R.; Maronezi, M.C.; Gasser, B.; Pavan, L.; Gatto, I. R. H.; Feliciano, M. A. R. (2018) Ultrasonography for lymph nodes metastasis identification in bitches with mammary neoplasms. **Scientific reports**, v. 8:17708.

Smereczyński, A.; Szopiński, T.; Gołabek, T.; Ostasz, O.; Bojko, S. (2014) Sonography of tumors and tumor-like lesions that mimic carcinoma of the urinary bladder. **Journal of Ultrasonography**, 14:36. Doi: 10.15557/JoU.2014.0004.

Sun, C. Y.; Lei, K. R.; Liu, B. J.; Bo, X. W.; Li, X. L.; He, Y. P.; Xu, H. X. (2017). Virtual touch tissue imaging and quantification (VTIQ) in the evaluation of thyroid nodules: the associated factors leading to misdiagnosis. **Scientific Reports**, 7(1), 41958.

Tagawa, M.; Tambo, N.; Maezawa, M.; Tomihari, M.; Watanabe, K. I.; Inokuma, H.; Miyahara, K. (2020) Quantitative analysis of the BRAF V595E mutation in plasma cell-free DNA from dogs with urothelial carcinoma. **PLoS ONE**, 15:e0232365.. Doi: 10.1371/journal.pone.0232365.

Têtu, B. (2009) Diagnosis of urothelial carcinoma from urine. **Mod Pathol**. 22 Suppl 2:S53-9. Doi: 10.1038/modpathol.2008.193.

Tozaki, M.; Saito, M.; Benson, J.; Fan, L.; Isobe, S. (2013). Shear wave velocity measurements for differential diagnosis of solid breast masses: a comparison between virtual touch quantification and virtual touch IQ. **Ultrasound in medicine & biology**, 39(12), 2233-2245.

Valli, V. E.; Norris, A.; Jacobs, R. M.; Laing, E.; Withrow, S.; Macy, D.; Henderson, R. A. (1995) Pathology of canine bladder and urethral cancer and correlation with tumour progression and survival. **Journal of Comparative Pathology**, vol. 113:13-130. Doi: 10.1016/S0021-9975(05)80027-1.

Watanabe, Yoshio. Histological study on innervation of dog bladder. **Archivum histologicum japonicum**, v. 7, n. 2, p. 311-326, 1954.

Wilkins, R. H. (1964) Neurosurgical Classic. XVII. **J Neurosurg**. Mar;21:240-4. doi: 10.3171/jns.1964.21.3.0240. PMID: 14127631.

Xu, Jun-Mei; Xu, Xiao-Hong; Xu, Hui-Xiong; Zhang, Yi-Feng; Zhang, Jing; Guo, Le-Hang; Liu, Lin-Na; Liu, Chang; Zheng, Shu-Guang. (2014). Conventional US, US Elasticity Imaging, and Acoustic Radiation Force Impulse Imaging for Prediction of Malignancy in Thyroid Nodules. **Radiology**, 272(2), 577–586.

Zhang, F.-J., Han, R.-L., & Zhao, X.-M. (2014). The value of virtual touch tissue image (VTI) and virtual touch tissue quantification (VTQ) in the differential diagnosis of thyroid nodules. **European Journal of Radiology**, 83(11), 2033–2040. doi:10.1016/j.ejrad.2014.08.011

CAPÍTULO 2 - Estudo das características elastográficas de carcinomas uroteliais em cães

Ana Paula Luiz de Oliveira¹; Bruna Bressianini Lima¹; Denise Jaques Ramos¹; Ricardo Andres Ramirez Uscategui²; Marcus Antônio Rossi Feliciano³; Andriago Barboza De Nardi⁴

¹ Aluna de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Estadual Paulista UNESP/Jaboticabal, SP, Brasil.

² Professor pesquisador da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da “Universidad CES”, Medellín, Colômbia;

³ Professor Associado da Universidade de São Paulo, USP FZEA, SP, Brasil;

⁴ Professor associado da Universidade Estadual Paulista Unesp/Jaboticabal, SP, Brasil;

Resumo

As neoplasias da bexiga em cães representam aproximadamente 2% de todas as lesões malignas registradas, sendo o carcinoma urotelial a forma mais comum e agressiva. Este estudo teve como objetivo caracterizar as propriedades elastográficas do carcinoma urotelial canino utilizando a elastografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) e avaliar sua capacidade diagnóstica. Sete cães com carcinoma urotelial e nove cães saudáveis foram avaliados, comparando-se a velocidade de onda de cisalhamento (SWV) e a espessura da parede vesical entre os grupos. Os resultados mostraram que a SWV foi significativamente maior nos cães com carcinoma urotelial (mediana de 2,53 m/s) em comparação com os cães saudáveis (mediana de 1,41 m/s; $p=0,0045$). A espessura da parede vesical também foi maior nos cães com carcinoma ($0,28 \pm 0,05$ cm) em comparação aos cães saudáveis ($0,14 \pm 0,26$ cm; $p=0,0003$). A análise das curvas ROC revelou alta sensibilidade (100%) e especificidade (88,9%) para a SWV na diferenciação entre tecidos saudáveis e neoplásicos. Esses achados sugerem que a elastografia ARFI é uma ferramenta promissora para o diagnóstico de carcinoma urotelial em cães, oferecendo uma abordagem não invasiva e quantitativa que pode complementar os métodos diagnósticos tradicionais. O uso da elastografia ARFI pode auxiliar no diagnóstico precoce e no manejo clínico, melhorando o prognóstico dos pacientes com neoplasia vesical.

Palavras-chave: diagnóstico não invasivo, elastografia ARFI, oncologia veterinária, ultrassonografia

1. Introdução

As neoplasias da bexiga em cães representam aproximadamente 2% de todas as lesões malignas registradas na medicina veterinária, com o carcinoma urotelial (UC), também conhecido como carcinoma de células transicionais (TCC),

sendo a forma mais comum e altamente agressiva dessa patologia (Knapp e McMillan, 2013). O diagnóstico tardio dessa neoplasia é frequentemente observado na prática clínica veterinária, pois os sinais clínicos iniciais, como disúria e hematúria, podem ser confundidos com outras condições menos graves, como cistite (Fulkerson e Knapp, 2015). Esse atraso no diagnóstico frequentemente resulta em tumores localmente avançados, com infiltração profunda na parede da bexiga e em estruturas adjacentes, o que complica o tratamento e piora o prognóstico.

Na medicina, várias técnicas de imagem têm sido empregadas para a caracterização de neoplasias vesicais, incluindo ultrassonografia modo-B, tomografia computadorizada (TC) e cistografia (Naughton et al., 2012). No entanto, essas abordagens apresentam limitações significativas. A ultrassonografia modo-B oferece uma avaliação morfológica das lesões, mas muitas vezes as lesões benignas, incluindo cistite polipoide e granulomas eosinofílicos, podem ser confundidas com lesões malignas podendo ser bastante parecidas, e necessitam de informações quantitativas sobre a rigidez tecidual, que pode ser um indicativo de malignidade (Billet, Moore, Holt, 2002; Park et al., 2013). A tomografia é um exame caro, limitado e requer anestesia, tornando-se menos viável para o uso rotineiro em clínicas veterinárias.

A elastografia por impulso de radiação acústica (ARFI) surge como uma técnica inovadora capaz de superar algumas dessas limitações. Essa tecnologia permite a avaliação quantitativa da rigidez dos tecidos, oferecendo uma medida indireta da elasticidade tecidual, que pode diferenciar entre tecidos normais e neoplásicos (Cruz et al., 2022). Na medicina veterinária, a elastografia ARFI tem sido aplicada com sucesso na avaliação de neoplasias mamárias e esplênicas em cães, demonstrando alto poder discriminativo para a detecção de malignidade (Feliciano et al., 2017; Maronezi et al., 2022). No entanto, seu uso na avaliação de neoplasias vesicais em cães ainda é pouco explorado, tornando-se necessário mais estudos que validem essa técnica nesse contexto clínico.

A hipótese do estudo é que a elastografia ARFI pode fornecer dados quantitativos reprodutíveis que auxiliam no diagnóstico precoce do carcinoma urotelial, oferecendo uma abordagem não invasiva e acessível para a prática clínica

veterinária. Portanto, o objetivo deste estudo é caracterizar as propriedades elastográficas de carcinomas uroteliais em cães utilizando a elastografia ARFI e verificar seu potencial diagnóstico por meio da comparação da rigidez tecidual entre tecidos saudáveis e neoplásicos.

2. Métodos

2.1. Animais

Este estudo clínico prospectivo, caso-controle, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP/Jaboticabal (protocolos 4280/22). No total, foram incluídos no estudo sete animais com carcinoma urotelial e nove animais saudáveis. A idade média dos cães com neoplasia foi de 12 ± 3 anos, enquanto a idade média dos cães saudáveis foi de 5 ± 2 anos. Entre os cães com neoplasia, dois eram sem raça definida (SRD), dois eram da raça Basset Hound, um era um Yorkshire Terrier, um era um Pastor Alemão e um era um Border Collie. O grupo de animais saudáveis incluía cães da raça Beagle, considerados saudáveis com base em anamnese, exame físico e urinálise.

Os cães com neoplasia foram atendidos pelo Serviço de Oncologia Veterinária do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da UNESP/Jaboticabal, Brasil. Foram incluídos aqueles pacientes que tiveram a afecção diagnosticada e que não passou por algum tipo de quimioterapia anteriormente, o diagnóstico de carcinoma urotelial foi confirmado por exame histopatológico das lesões, análise da presença do gene BRAF na urina por PCR digital ou por análise citológica de sedimento urinário (Childress et al., 2011; Knapp e McMillan, 2013; Yamasaki et al., 2022). A escolha do método diagnóstico foi determinada com base no protocolo individual estabelecido pelos médicos veterinários responsáveis e nas condições financeiras dos tutores.

Os tutores dos animais com neoplasia foram previamente informados sobre todos os detalhes do estudo e forneceram consentimento por meio de um Termo de

Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), autorizando a participação de seus animais no estudo.

Os cães do grupo saudável pertencem ao Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP/Jaboticabal, Brasil.

2.2. *Anamnese e Exame Físico*

Foi realizada anamnese detalhada em todos os animais dos dois grupos para coletar informações sobre o histórico da doença, incluindo histórico cirúrgico, histórico de exames, presença de dor, estrangúria e urgência urinária. O exame físico focou no sistema urinário, avaliando a coloração e o aspecto da urina, bem como a presença de dor à palpação na região do abdômen caudal.

Após a anamnese e o exame físico, todos os pacientes passaram por tricotomia da porção abdominal caudal para permitir a visualização adequada da bexiga. Em seguida, os animais foram encaminhados para a sala de ultrassonografia para a realização do exame ultrassonográfico.

2.3. *Diagnóstico por Imagem*

O exame ultrassonográfico foi realizado com os cães posicionados em decúbito dorsal, com a cabeça voltada para o monitor e o corpo alinhado paralelamente ao aparelho, situado à direita do operador. Para a execução do exame, após tricotomia ampla da região de abdome, foi aplicado gel de transmissão acústica na região abdominal a fim de facilitar o contato da pele com o transdutor e reduzir a formação de artefatos (Feliciano, 2019).

O exame foi conduzido utilizando o aparelho ACUSON S2000/SIEMENS, equipado com transdutor multifrequencial, matricial e linear de 9,0 MHz. Tanto o exame ultrassonográfico modo-B quanto a elastografia ARFI foram realizados com este equipamento. Todas as avaliações ultrassonográficas foram executadas por um único operador.

2.3.1. Ultrassonografia modo-B

Para a avaliação ultrassonográfica da bexiga, o transdutor foi posicionado na região abdominal. Os parâmetros do aparelho ultrassonográfico, incluindo profundidade, ganho, índice mecânico e foco, foram ajustados para assegurar uma boa qualidade de imagem. Após localizar o órgão, foram obtidas imagens nos planos longitudinal e transversal ao longo de toda a sua extensão (Feliciano, 2019).

Durante o exame, a parede da bexiga foi avaliada quanto à espessura, regularidade, integridade da superfície e ao aspecto do conteúdo urinário. A ecogenicidade da urina e a presença de partículas também foram analisadas. Para verificar a presença de partículas, foi realizado o teste do balotamento, que consistiu na agitação suave da bexiga para observar o movimento de focos ecogênicos, quando presentes (Feliciano, Canola e Vicente, 2015a).

As avaliações ultrassonográficas das massas vesicais incluíram (ver Figura 1 – A e B): dimensões (altura e comprimento), padrão de ecotextura (homogêneo ou heterogêneo), localização (ápice, corpo, trígono ou difusa), características dos contornos das formações (regulares ou irregulares), formato do tumor (pedunculado ou não pedunculado), envolvimento da parede (envolvimento da camada muscular da parede da bexiga ou não) e ecogenicidade (hipoecogênica, hiperecogênica ou mista) (Hanazono et al., 2014).



Figura 1 – A) Avaliação ultrassonográfica modo-B da formação vesical não pedunculada, com invasão da parede da bexiga e dimensões (altura e comprimento) em paciente canino com carcinoma urotelial. B) Avaliação ultrassonográfica modo-B e mensuração da espessura da parede da bexiga altura em paciente canino com carcinoma urotelial.

2.3.2. Elastografia ARFI (*Acoustic Radiation Force Impulse*)

Após a avaliação em modo-B, foi realizada a elastografia ARFI da bexiga utilizando o software Virtual Touch™ IQ (Siemens, Alemanha). Foram obtidas imagens da parede vesical (no grupo de animais saudáveis) e das estruturas formadas ou neoplasmas (no grupo de animais com neoplasia).

Para o estudo qualitativo, foi avaliada a deformabilidade dos tecidos, identificando se eram deformáveis ou não deformáveis, e a rigidez relativa dos tecidos avaliados, com base nas diferentes cores do elastograma (modo velocidade) (ver Figura 2 – A e B). No elastograma, a cor azul indicava estruturas menos rígidas em comparação com as verdes (rigidez menor), enquanto as regiões de coloração avermelhada representavam estruturas mais rígidas.

A qualidade das imagens foi avaliada por meio de um display que classificava a homogeneidade e a coloração das imagens: imagens homogêneas e predominantemente esverdeadas indicavam alta qualidade, enquanto imagens heterogêneas e predominantemente amareladas indicavam baixa qualidade (modo qualidade) (ver Figura 2 – A e B).

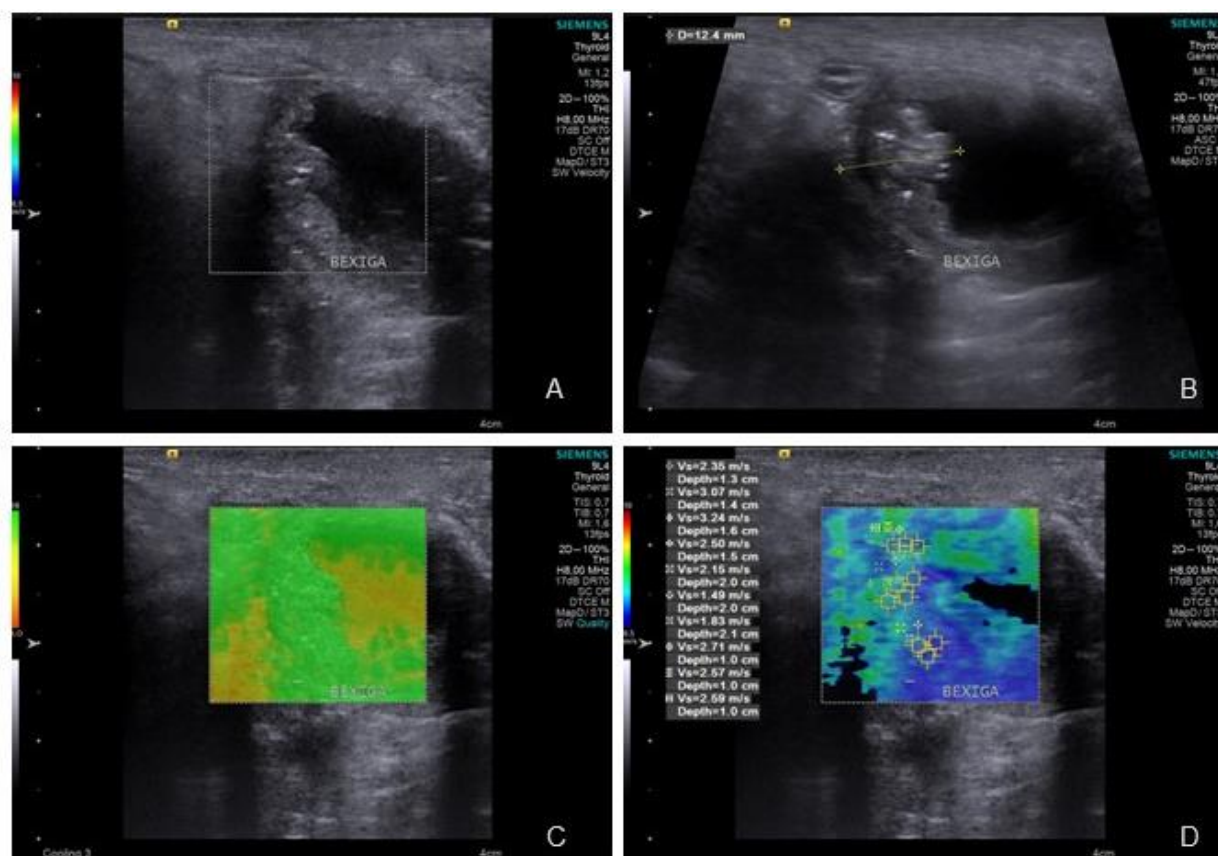


Figura 2 – Imagens obtidas por meio da elastografia ARFI (*Acoustic Radiation Force Impulse*) de formação vesical em paciente canino com carcinoma urotelial. A) Imagem em modo-B do neoplasma vesical e B) Mensuração de sua altura. C) Modo qualidade: mapa de qualidade onde as áreas homogêneas e esverdeadas indicam alta qualidade do exame, enquanto as áreas heterogêneas e amareladas/avermelhadas indicam baixa qualidade. D) Modo velocidade: elastograma para avaliação quantitativa da rigidez tecidual (m/s), as diferentes cores no elastograma indicam a deformabilidade do tecido: azul para estruturas menos rígidas, verde para rigidez intermediária e vermelho para estruturas mais rígidas. A distribuição de calipers de regiões de interesse (ROIs) realizada aleatoriamente com base no mapa de qualidade.

Após a análise qualitativa, foram posicionados calipers eletrônicos para selecionar cinco (05) regiões de interesse (ROIs – 1 x 1 mm) de forma aleatória em cada área da massa (tumor) avaliada, com o objetivo de incluir o máximo possível de tecido visível na tela, utilizando a ferramenta de análise quantitativa do mesmo software. Automaticamente, foram obtidos os valores da velocidade de propagação da onda de cisalhamento tecidual (SWV) em metros por segundo (m/s) para cada um desses ROIs, e a média foi calculada para cada região estudada (Abreu et al., 2018; Maronezi et al., 2019).

A mesma sequência de avaliação foi aplicada aos cães saudáveis. A análise qualitativa e quantitativa pela elastografia ARFI foi realizada na região dorsal da parede da bexiga, onde foram selecionadas cinco ROIs de forma aleatória, após a obtenção do mapa de qualidade (ver Figura 3 – A e B; Figura 4 – A e B).

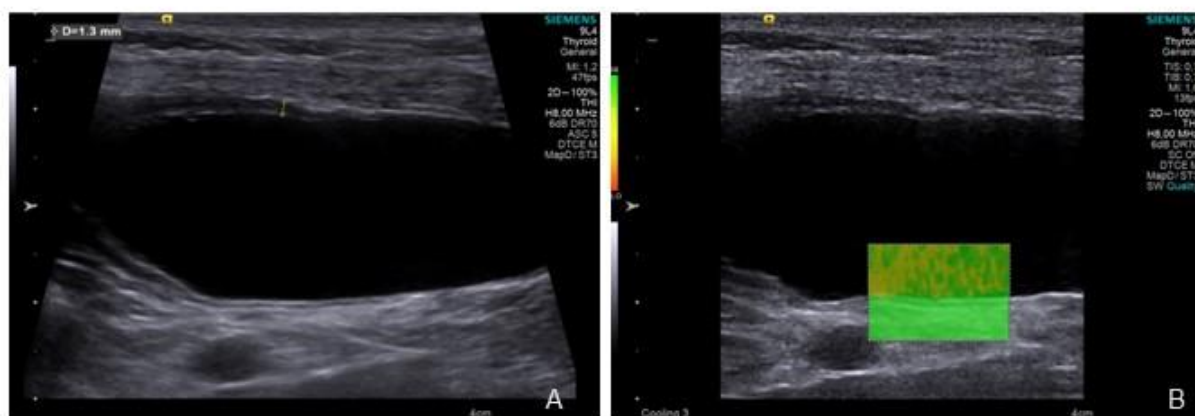


Figura 3 – Imagem obtida pelo aparelho ACUSON S2000/SIEMENS, modo-B (A) e elastografia ARFI (*Acoustic Radiation Force Impulse*) (B) em parede da bexiga de cão saudável. A) Avaliação ultrassonográfica modo-B, avaliação da repleção e mensuração da espessura da parede da bexiga de um cão saudável. B) Modo qualidade: imagem do mapa de qualidade, onde as áreas homogêneas e esverdeadas indicam alta qualidade do exame, enquanto as áreas heterogêneas e amareladas/avermelhadas indicam baixa qualidade.

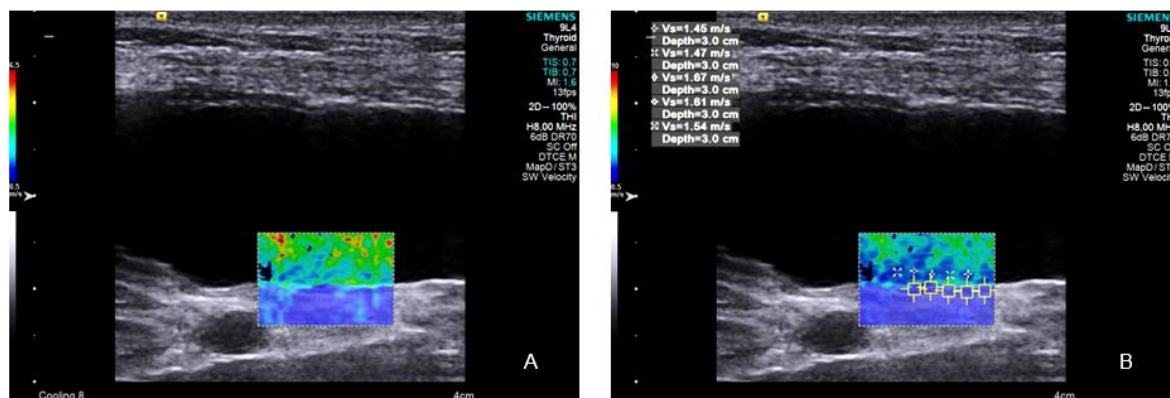


Figura 4 – Imagens obtidas por meio da elastografia ARFI (*Acoustic Radiation Force Impulse*) em avaliação da parede da bexiga de cão saudável. A) Modo velocidade: elastograma para avaliação quantitativa da rigidez tecidual (m/s), a partir das diferentes cores do elastograma é possível compreender a deformabilidade do tecido onde a cor azul indica estruturas menos rígidas que as de cor verde (rigidez intermediária), e as regiões com cor vermelha apresentam estruturas mais rígidas. B) Distribuição de cinco calipers em ROIs aleatoriamente na região dorsal da bexiga saudável com base no mapa de qualidade.

3. Estatística

A análise dos dados foi realizada com o auxílio do software GraphPad Prism (versão 8.0.0 para Windows). Inicialmente, as medições da velocidade de propagação da onda de cisalhamento tecidual (SWV) em diferentes regiões de interesse (ROIs) da parede vesical foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Caso as medições não apresentassem diferenças significativas, as análises subsequentes seriam baseadas na mediana dessas medições.

Em seguida, as velocidades da SWV da parede vesical, bem como a espessura da parede, foram comparadas entre os animais com neoplasia vesical e os animais saudáveis, utilizando o teste de Mann-Whitney. Quando esse teste indicou significância, as variáveis foram submetidas a uma análise de poder discriminativo para identificar a presença de neoplasia vesical, por meio da análise de curvas ROC. Foi calculado o valor de corte (VC), além da sensibilidade, especificidade, razão de verossimilhança (*likelihood ratio*) e área sob a curva (AUC) para o VC, utilizando o modelo de regressão logística com o método de Wilson/Brown.

Além disso, as variáveis qualitativas foram analisadas de forma subjetiva para presença ou ausência, ou pelo teste exato de Fisher quando aplicável. A significância estatística foi considerada para valores de $p < 0,05$, e os dados foram apresentados como mediana $\pm$ intervalo interquartil (IQR).

4. Resultados

Os exames ultrassonográficos foram realizados sem quaisquer intercorrências em todos os pacientes dos dois grupos avaliados.

4.1. Achados qualitativos

No grupo de animais com carcinoma urotelial, os diagnósticos foram confirmados pelos seguintes métodos: quatro animais foram diagnosticados pela análise do gene BRAF por PCR digital, um animal foi diagnosticado por exame

histopatológico (Figura 3), e os outros dois foram diagnosticados por três métodos diagnósticos combinados (citologia, análise do gene BRAF e exame histopatológico). Os animais diagnosticados com carcinoma urotelial que incluíram exame histopatológico foram submetidos à celiotomia para procedimento cirúrgico (Figura 5 – A, B e C).

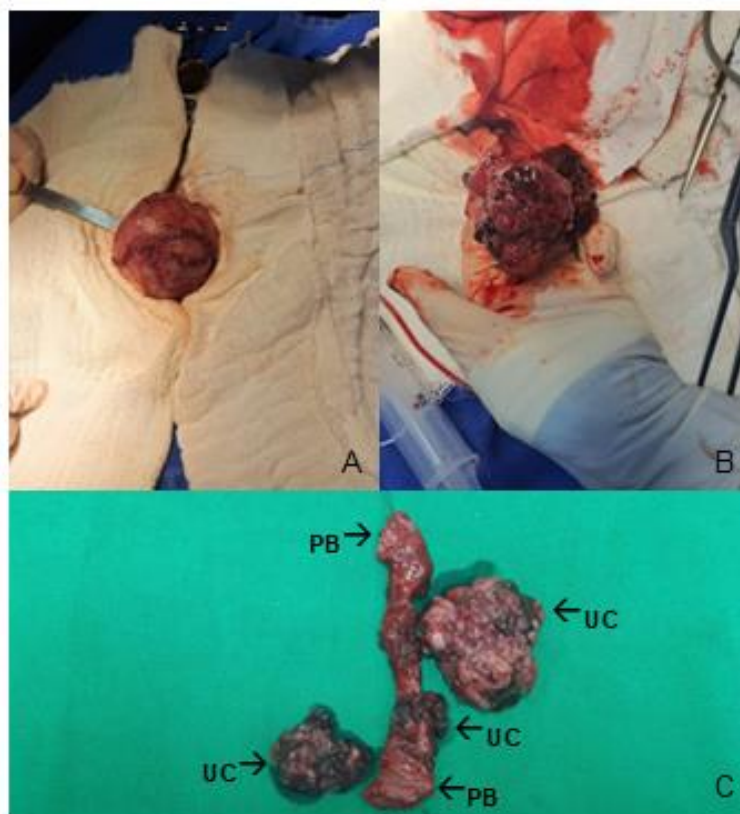


Figura 5 – Imagens fotográficas trans cirúrgico cão, macho, Border Collie, 8 anos, com diagnóstico definitivo de Carcinoma Urotelial, submetido à tratamento cirúrgico cistectomia parcial por carcinoma urotelial, material foi encaminhado para exame histopatológico. A) Exposição da bexiga canina por meio de celiotomia. B) Cistotomia e exposição da formação por carcinoma urotelial em bexiga canina. C) Material excisado após cistectomia parcial. PB (parede da bexiga) e UC (formação por carcinoma urotelial).

Quanto à distribuição por sexo dentro do grupo com neoplasia, dois animais eram machos e cinco eram fêmeas. No grupo de animais saudáveis, seis eram fêmeas e três eram machos.

Em relação ao aspecto macroscópico da urina, a cor variou de laranja a vermelha em seis dos sete pacientes com neoplasia, enquanto a urina dos animais saudáveis era amarela em todos os casos. Todos os animais com neoplasia

apresentavam sinais de dor à palpação e disúria, enquanto nenhum animal do grupo saudável apresentou esses sinais. Todos os animais saudáveis tinham a bexiga cheia durante a avaliação ultrassonográfica, ao passo que nenhum dos animais com neoplasia apresentou este achado.

A parede da bexiga estava irregular em três dos sete animais com neoplasia, mas em nenhum dos animais saudáveis. A ecogenicidade das massas encontradas foi hiperecogênica em cinco dos animais com neoplasia e mista em dois deles e apresentavam características heterogêneas com bordas irregulares e todas eram pedunculadas com invasão da musculatura.

A localização das formações neoplásicas na bexiga variou: duas estavam localizadas no trígono vesical, duas na região dorsal, uma na região ventral, duas nas regiões cranioventral e craniodorsal, e um cão apresentava uma formação neoplásica que envolvia toda a extensão da bexiga, incluindo a uretra prostática e a próstata.

4.2. Achados quantitativos

A média das dimensões das neoformações foi de $1,7 \pm 1,0$ cm de altura e $3,0 \pm 1,0$ cm de comprimento. As velocidades de onda de cisalhamento (SWVs) mensuradas nas diferentes regiões de interesse (ROIs) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos ($p=0,2925$). Consequentemente, calculou-se a mediana da SWV da parede vesical para as seguintes avaliações. A SWV da parede vesical e a espessura da mesma apresentaram valores maiores em pacientes com neoplasia, como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Caracterização ultrassonográfica por elastografia ARFI (*Acoustic Radiation Force Impulse*) e modo-B pela espessura da parede da bexiga em cães saudáveis e cães com carcinoma urotelial

Variável	Grupo	Mediana ± IQR	Valor de P
SWV da parede vesical (m/s)	Saudável	1,41±0,50	0,0045
	Neoplasia	2,53±2,11	
Espessura parede vesical (cm)	Saudável	0,14±0,26	0,0003
	Neoplasia	0,28±0,05	

Tanto a SWV ($p=0,0012$) quanto a espessura da parede da bexiga ($p=0,0065$) demonstraram poder discriminativo para a identificação de carcinoma urotelial, com características diagnósticas resumidas na Tabela 2 e ilustradas na Figura 6.

Tabela 2 - Resultados da associação entre achados eletrográficos de ARFI (*Acoustic Radiation Force Impulse*) e a espessura da parede da bexiga com a presença de carcinoma urotelial

Característica	VC	Sensibilidade%	Especificidade%	Likelihood ratio	AUC
SWV da parede vesical (m/s)	> 1,585m/s	100,0	88,89	9,000	0,984
Espessura parede vesical (cm)	> 0,165cm	85,71	87,50	6,857	0,919

VC: valor de corte. AUC: área sob a curva.

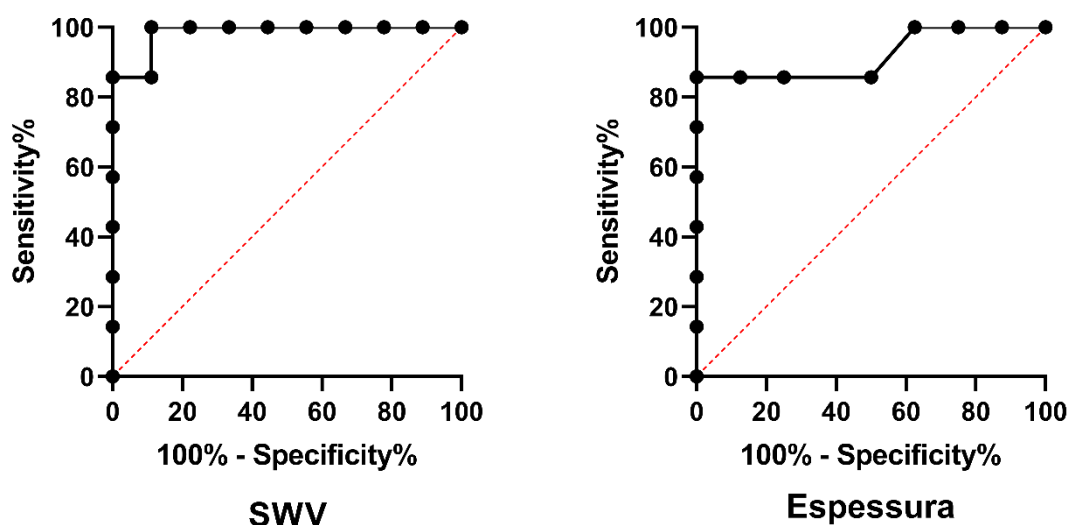


Figura 6 – Curvas ROC (*Receiving Operating Characteristic*) comparando a sensibilidade e especificidade da velocidade da onda de cisalhamento na elastografia ARFI e da espessura da parede da bexiga entre cães saudáveis e com carcinoma urotelial. SWV: velocidade das ondas de cisalhamento.

5. Discussão

Este estudo fornece uma contribuição significativa para a caracterização das propriedades elastográficas da bexiga saudável e de carcinomas uroteliais em cães, utilizando a técnica de elastografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse). A análise da velocidade de onda de cisalhamento (SWV), mediana de 2,53 m/s no grupo de cães com carcinoma urotelial, em comparação com 1,41 m/s nos cães saudáveis ($p = 0,0045$) e da espessura da parede vesical, $0,28 \pm 0,05$ cm no grupo doente, em contraste com $0,14 \pm 0,26$ cm nos cães saudáveis ($p = 0,0003$), revelou que ambas as variáveis têm um potencial promissor na detecção de neoplasias vesicais e que a elastografia ARFI poder ser uma importante ferramenta de triagem para o carcinoma urotelial. Estabelecer valores de referência a partir da caracterização tecidual dos cães saudáveis é um passo fundamental, e o valor de corte de 1,585 m/s para SWV destaca-se como uma importante ferramenta diagnóstica para o carcinoma urotelial e servindo como pontapé inicial para a diferenciação futura entre lesões benignas de malignas.

Esses resultados corroboram com pesquisas anteriores em neoplasmas de outros órgãos, onde a maior rigidez tecidual tem sido associada a alterações histopatológicas, como aumento da densidade celular, proliferação desordenada e desorganização do estroma (Nightingale et al., 2002; Park et al., 2013). Estudos realizados em humanos com afecções hepáticas e renais demonstraram que a elastografia ARFI possui alta sensibilidade para detectar aumento na rigidez tecidual, o que está correlacionado com a malignidade (Gallotti et al., 2012; Yoğurtçuoğlu e Damar, 2021). O espessamento é consistente com a infiltração tumoral observada em carcinomas invasivos, conforme relatado em estudos anteriores que utilizaram ultrassonografia e tomografia computadorizada para a avaliação de neoplasias vesicais (Knapp e McMillan, 2013). Assim, essa infiltração tumoral, refletida pelo espessamento da parede vesical, é indicativa de comportamento maligno, destacando a importância da avaliação ultrassonográfica como ferramenta complementar tanto para o diagnóstico quanto para o estadiamento do carcinoma urotelial.

A análise das curvas ROC neste estudo revelou uma sensibilidade de 100% para a velocidade de onda de cisalhamento (SWV) e de 85,7% para a espessura da parede vesical, indicando que a técnica tem potencial para uma excelente capacidade diagnóstica. A elevada sensibilidade observada para a SWV é consistente com resultados de estudos que utilizaram a elastografia ARFI para o diagnóstico de cânceres mamários e prostáticos em humanos, onde a técnica demonstrou ser uma ferramenta valiosa para a detecção precoce de lesões malignas (Kumm e Szabunio, 2010; Meng et al., 2011; Cui et al., 2022).

Além dos achados quantitativos, os sinais clínicos reforçam que os carcinomas uroteliais são diagnosticados tardiamente e que o fato de os sinais clínicos que se assemelham aos observados em cistites, dificultando o diagnóstico precoce. Os animais do grupo doente apresentaram uma variedade de sinais clínicos, como dor à palpação, urina com coloração alterada e dificuldade em manter a bexiga repleta, que são frequentemente associados a neoplasias vesicais (Fulkerson e Knapp, 2015). Esses sinais clínicos, combinados com a observação de massas vesicais heterogêneas e com bordas irregulares, corroboram estudos anteriores que indicam que essas características estão associadas a um prognóstico

mais reservado (Hanazono et al., 2014). Além disso, a menor dependência da subjetividade do operador, em comparação com a ultrassonografia convencional, faz da elastografia ARFI uma ferramenta quantitativa e reproduzível, o que é essencial para a padronização dos diagnósticos (Feliciano et al., 2017; Maronezi et al., 2019). Juntamente com o fato de que a elastografia ARFI apresenta capacidade de detectar alterações teciduais sutis antes mesmo de as lesões se tornarem macroscopicamente visíveis representa um avanço significativo no diagnóstico de diversas patologias (Furuichi et al., 2013). Comumente observa-se sinal de incontínência nos pacientes com carcinoma urotelial (Reed, Knapp e Miller, 2013), uma hipótese é que ocorre justamente pelo aumento da rigidez com consequente diminuição da complacência

Na medicina veterinária, estudos têm avaliado a aplicação da elastografia ARFI na diferenciação de tumores malignos e benignos em diferentes tecidos de cães, como a análise de tumores esplênicos, neoplasias cutâneas, e a identificação de linfonodos metastáticos em cadelas com neoplasia mamária. Esses estudos demonstraram que a técnica pode ser eficaz na identificação de lesões com características malignas, contribuindo para um diagnóstico mais preciso e para a tomada de decisões clínicas (Feliciano et al., 2015b; Silva et al., 2018; Cruz et al., 2022; Maronezi et al., 2022).

Com este estudo e o histórico da aplicação da elastografia ARFI na diferenciação entre tecidos saudáveis de tecidos doentes, a aplicação da técnica na avaliação de neoplasias vesicais caninas torna-se uma possibilidade real, onde a rigidez tecidual elevada foi associada à presença de carcinoma urotelial.

Estudos futuros avaliando a rigidez da parede da bexiga em casos de neoplasias e comparar com a rigidez da parede de bexigas em casos de cistites crônica, onde a parede é cronicamente espessada, bem como em casos de formações benignas, como os pólipos, são importantes para definir se há diferença entre neoplasias e lesões benignas, entre neoplasias e tecido normal, entre lesões benignas e tecido normal e estabelecer os valores de corte para cada uma delas. Afinal, um estudo realizado em crianças com cistite, onde compararam os valores da rigidez do tecido saudável e doente pela elastografia por ondas de cisalhamento

bidimensional, também identificou correlação entre os valores das ondas de cisalhamento e espessura da parede (Durmaz et al., 2021).

A elastografia ARFI, assim como o próprio exame ultrassonográfico modo-B, podem fornecer informações que, mesmo não sendo propriamente diagnósticas, são fundamentais para o processo de diagnóstico precoce, fornecendo informações que podem ser utilizadas como guia tanto para a tomada de decisão pelo médico veterinário oncologista quanto pelo tutor/proprietário. Assim, é importante explorar em pesquisas futuras a combinação da elastografia ARFI com outras técnicas diagnósticas, como a detecção de mutações genéticas, como a mutação BRAF. A associação entre métodos moleculares e diagnósticos por imagem poderia aprimorar ainda mais a precisão diagnóstica e permitir uma abordagem mais personalizada no tratamento de pacientes com carcinoma urotelial (Mochizuki et al., 2015). A literatura sugere que a integração de técnicas pode aumentar significativamente a sensibilidade e a especificidade dos diagnósticos, especialmente em neoplasias agressivas e de difícil detecção (Cruz et al., 2022).

Embora os resultados deste estudo sejam promissores, é importante reconhecer suas limitações. O número limitado de casos avaliados é uma das principais restrições, o que pode afetar a generalização dos resultados. Estudos futuros devem incluir amostras maiores e mais diversificadas, tanto em termos de número de animais quanto de diversidade racial, para validar os achados e garantir que a técnica ARFI seja eficaz em uma ampla gama de pacientes (Childress et al., 2011).

6. Conclusões

O estudo demonstrou que a elastografia ARFI é uma ferramenta no diagnóstico de carcinoma urotelial em cães, fornecendo informações quantitativas que podem complementar as abordagens tradicionais. Sugere a realização de novos estudos na área, para reforçar os achados e expandir o uso clínico da elastografia ARFI na prática veterinária. Novos estudos a partir desse deverão ser realizados para ampliação de sua aplicação para diferenciação das doenças neoplásicas e não-neoplásicas

Referências

Abreu, T.G.M., Feliciano, M.A.R., Renzo, R., et al. (2018). Acoustic radiation force impulse elastography of the eyes of brachycephalic dogs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 70, 949-958.

Billet, J. P. H., Moore, A. H., & Holt, P. E. (2002). Evaluation of a bladder tumor antigen test for the diagnosis of lower urinary tract malignancies in dogs. **American journal of veterinary research**, 63(3), 370-373.

Childress, M.O., Adams, L.G., Ramos-Vara, J.A., Freeman, L.J., He, S., Constable, P.D., & Knapp, D.W. (2011). Results of biopsy via transurethral cystoscopy and cystotomy for diagnosis of transitional cell carcinoma of the urinary bladder and urethra in dogs: 92 cases (2003-2008). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 239(3), 350-356. Doi: 10.2460/javma.239.3.350.

Cruz, I.C.K., Carneiro, R.K., De Nardi, A.B., Uscategui, R.A.R., Bortoluzzi, E.M., & Feliciano, M.A.R. (2022). Malignancy prediction of cutaneous and subcutaneous neoplasms in canines using B-mode ultrasonography, Doppler, and ARFI elastography. **BMC Veterinary Research**, 18(1), 1-13.

Feliciano MAR, Canola JC, Vicente WRR (2015a) **Diagnóstico por Imagem: em cães e gatos**. São Paulo: MedVet

Feliciano, M. A. R., Maronezi, M. C., Crivellenti, L. Z., Crivellenti, S. B., Simões, A. P. R., Brito, M. B. S., ... & Vicente, W. R. R. (2015b). Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of the spleen in healthy adult cats—a preliminary study. **Journal of Small Animal Practice**, 56(3), 180-183.

Feliciano MAR, Uscategui RAR, Maronezi MC, Simões APR, Silva P, Gasser, B, Vicente WRR (2017) Ultrasonography methods for predicting malignancy in canine mammary tumors. **PloS one**, v. 12:e0178143.

Fulkerson CM, Knapp DW (2015) Management of transitional cell carcinoma of the urinary bladder in dogs: A review. **The Veterinary Journal**, 205:217–225. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.01.017>

Furuichi, Y., Moriyasu, F., Taira, J., Sugimoto, K., Sano, T., Ichimura, S., ... & Imai, Y. (2013). Noninvasive diagnostic method for idiopathic portal hypertension based on measurements of liver and spleen stiffness by ARFI elastography. **Journal of gastroenterology**, 48, 1061-1068.

Gallotti, A., D'Onofrio, M., Pozzi Mucelli, R., & Catania, M. (2012). Acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging of solid focal liver lesions. **European Journal of Radiology**, 81(3), 451-455.

Hanazono K, Fukumoto S, Endo Y, Ueno H, Kadosawa T, Uchide T (2014) Ultrasonographic findings related to prognosis in canine transitional cell carcinoma. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, 55:79-84. Doi: 10.1111/vru.12085.

Knapp, D. W. (2007). **Tumors of the urinary systems**. Small animal clinical oncology, 649-658.

Kumm, T. R., & Szabunio, M. M. (2010). Elastography for the characterization of breast lesions: initial clinical experience. **Cancer control**, 17(3), 156-161.

Maronezi MC, Carneiro RK, Da Cruz ICK, De Oliveira APL, De Nardi AB, Pavan L, Feliciano MAR (2022) Accuracy of B-mode ultrasound and ARFI elastography in predicting malignancy of canine splenic lesions. **Scientific Reports**, 12:4252.

Meng, W., Zhang, G., Wu, C., Wu, G., Song, Y., & Lu, Z. (2011). Preliminary results of acoustic radiation force impulse (ARFI) ultrasound imaging of breast lesions. **Ultrasound in medicine & biology**, 37(9), 1436-1443.

Mochizuki, H., Shapiro, S. G., & Breen, M. (2015). Detection of BRAF mutation in urine DNA as a molecular diagnostic for canine urothelial and prostatic carcinoma. **PloS one**, 10(12), e0144170.

Naughton, J. F., Widmer, W. R., Constable, P. D., & Knapp, D. W. (2012). Accuracy of three-dimensional and two-dimensional ultrasonography for measurement of tumor volume in dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. **American journal of veterinary research**, 73(12), 1919-1924.

Nightingale, K., McAleavey, S., & Trahey, G. (2002). Shear-wave generation using acoustic radiation force: In vivo and ex vivo results. **Ultrasound in Medicine & Biology**, 28(2), 227-235.

Park, H., Park, J.Y., Ahn, S.H., Chon, C.Y., Han, K.H., & Kim, S.U. (2013). Characterization of focal liver masses using acoustic radiation force impulse elastography. **World Journal of Gastroenterology**, 19(2), 219-226. Doi: 10.3748/wjg.v19.i2.219.

Reed, L. T., Knapp, D. W., & Miller, M. A. (2013). Cutaneous metastasis of transitional cell carcinoma in 12 dogs. **Veterinary pathology**, 50(4), 676-681.

Yamasaki H, Uematsu Y, Okano K, Ichikawa M, Tei M, Hirabayashi M, Hirao H (2022) Establishment and characterization of urothelial carcinoma cell lines with and without BRAF mutation (V595E) in dogs. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal**, v. 58:898-911.

Yoğurtçuoğlu, B., & Damar, Ç. (2021). Renal elastography measurements in children with acute glomerulonephritis. **Ultrasonography**, 40(4), 575.