UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

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

Priscila Del Aguila da Silva

Médica Veterinária

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

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

Priscila Del Aguila da Silva

Orientador: Prof. Dr. Marcus Antonio Rossi Feliciano

Coorientador: Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente

Coorientador: Dr. Ricardo Andres Ramirez Uscategui

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

2017

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

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

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

CDU 619:618.1:636.3

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

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

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

AUTORA: PRISCILA DEL AGUILA DA SILVA
ORIENTADOR: MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO
COORIENTADOR: WILTER RICARDO RUSSIANO VICENTE
COORIENTADOR: RICARDO ANDRES RAMIREZ USCATEGUI

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

Prof. Dr. MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

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

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

Jaboticabal, 24 de fevereiro de 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

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

AGRADECIMENTOS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

SUMÁRIO

Pag.

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

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

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

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

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

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

Jaboticabal, 06 de julho de 2016.

Profª Drª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n - 14884-900 - Jaboticabal - SP - Brasil
tel 16 3209 2600 fax 3202 4275 www.fcav.unesp.br

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

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

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

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

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

Keywords: Santa Inês, gestational evaluation, fetal maturation.

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. Introdução

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

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

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

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

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

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

2. Revisão de Literatura

2.1 Fisiologia da gestação em ovelhas

A gestação consiste no processo fisiológico que se inicia na fecundação e se conduz até o momento do parto. O período médio de gestação da ovelha é de 150 dias, podendo sofrer variações de acordo com fatores nutricionais, manejo, sanitário, idade da mãe, número de fetos, raça, dentre outros (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

Nos ovinos, o estabelecimento da prenhez se inicia com o estágio de blastocisto e inclui a sinalização do reconhecimento da gestação, implantação do concepto e placentação. O reconhecimento materno da prenhez é mediado pelo interferon Ƭ, secretado pelo concepto entre os dias 12 e 13 da gestação (TAVERNE; NOAKES, 2009). Para que se estabeleça e desenvolva uma gestação devem ocorrer uma série de mudanças endócrinas desencadeadas por interações ocorridas entre o concepto e útero materno (AISEN, 2008; FTHENAKIS et al., 2012).

Em pequenos ruminantes o corpo lúteo é mantido durante toda a gestação, entretanto, nas ovelhas a gestação é placenta-dependente, sendo esta a fonte de progesterona responsável pela manutenção do processo gestacional a partir da segunda metade da prenhez. A placenta atua no intercâmbio entre o feto e a mãe. Em ovelhas é do tipo cotiledonária e a junção dos cotilédones distribuídos no cório com as projeções do endométrio denominadas carúnculas, formando os placentônios. (AISEN, 2008; HYTTEL et al., 2012).

O mecanismo antiluteolítico do interferon Ƭ baseia-se na estabilização e aumento gradativo dos receptores de progesterona, inibição da síntese endometrial de receptores de estrógeno e ocitocina, o que leva a uma interrupção da liberação pulsátil de $PGF_{2\alpha}$. A implantação do embrião se dá pela adesão das células trofoblásticas mononucleares ao epitélio endometrial

do lúmen e fusão de células gigantes binucleadas com o epitélio luminal (SPENCER et al., 2004).

A vida pré-natal pode ser dividida em três períodos principais: período de fertilização, que acaba com o acoplamento inicial do embrião; embrionário: do 12º ao 34º dia, aproximadamente, quando ocorre o rápido crescimento e diferenciação com formação inicial da maioria dos órgãos e características do corpo; e período fetal, caracterizado pelo crescimento e maturação do feto (JAINUDEEN; HAFEZ, 2000).

O parto espontâneo em ovinos ocorre em torno de 150 dias (variação de 144-156), depois de um abrupto declínio na concentração de progesterona circulante. Anteriormente ao parto, ocorrem mudanças morfofisiológicas e de comportamento das fêmeas gestantes como relaxamento da parede abdominal e dilatação da vulva, além de serem percebidos inquietude e isolamento do animal. Estudos prévios demonstram que a ativação do eixo pituitário-adrenal do feto e consequente queda dos níveis de progesterona dão início ao trabalho de parto (CURRIE, 1934; FTHENAKIS et al., 2012). É demonstrado que nos animais domésticos há um brusco aumento do nível de cortisol e ACTH fetais coincidindo com o fim da gestação, sobretudo nas 48 horas que antecedem o parto (AISEN, 2008).

2.2 Desenvolvimento e maturidade fetal

O termo maturidade fetal é definido como um estado de completo desenvolvimento, perfeição e excelência, ou seja, um feto maduro é aquele que passou por um desenvolvimento tal que já se encontra apto a sobreviver fora do ambiente materno (CANELLO et al., 2015).

2.2.1 Pulmão

O desenvolvimento do aparelho respiratório fetal é um fenômeno complexo e contínuo, que engloba o crescimento e maturação pulmonar, sendo que a adaptação imediata à vida extrauterina depende diretamente da presença de uma função pulmonar adequada, correta maturação morfológica, fisiológica e bioquímica do parênquima pulmonar (CUELLO et al., 1993; KOPELMAN et al., 1998).

A ocorrência do desenvolvimento dos brônquios e dos pulmões pode ser didaticamente dividida em períodos: embrionário, fetal e pós-natal. Especificamente no período fetal, as ramificações brônquicas e estruturas alveolares preliminares são formadas. Este período pode ser subdividido em pseudoglandular, canalicular, sacular e alveolar (HYTTEL; SINOWATZ; VEJLSTED, 2012), onde ocorrem bifurcações do brônquio segmentar e origem dos bronquíolos terminais; formação de alvéolos primordiais decorrente de sucessivas bifurcações dos bronquíolos respiratórios; formação dos sáculos cegos; e formação definitiva dos alvéolos, respectivamente (DROZDOWSKA, 2016).

No período fetal, o lúmen do sistema respiratório é preenchido com fluídos resultante da secreção de glândulas em desenvolvimento e fluido amniótico aspirado nos movimentos respiratórios pré-natais e esses mecanismos combinados são determinantes no processo de crescimento pulmonar fetal (JOSHI; KOTECHA, 2007). Este líquido pulmonar é produzido principalmente por células epiteliais das vias aéreas distais e, especificamente em ovinos, são produzidos cerda de 2ml/kg/h na metade da gestação, chegando a 5ml/kg/h próximo da parição (KOTECHA, 2000).

A deficiência na maturidade fetal pode ser clinicamente caracterizada, entre outros fatores, pela insuficiência respiratória. Logo, é de grande importância que o grau de maturidade pulmonar fetal seja avaliado, considerando que qualquer defeito na formação de componentes pulmonares ou ainda em nascimentos prematuros, pode acarretar problemas respiratórios ao neonato, como a síndrome da angústia respiratória (SAR). Evitar o nascimento prematuro constitui a principal medida preventiva para reduzir os riscos e sequelas da morbidade respiratória neonatal (TABORDA et al.,1998).

Na medicina, a maturidade fetal pulmonar é avaliada pelo fluido amniótico utilizando amniocentese. Conforme o pulmão se desenvolve, quantidades significativas de surfactante são eliminadas dos pulmões do feto e se acumulam no líquido amniótico (FIELD & GILBERT, 1997). Basicamente, os testes de maturidade pulmonar dosam a presença do material surfactante no líquido amniótico ou testam a função surfactante presente nesse líquido (LUZ, 2001). A aplicabilidade de tais testes em veterinária ainda é recente, sendo na maioria das vezes utilizados em pesquisa.

2.2.2 Fígado

O fígado desenvolve-se a partir de brotos endodermais que surgem na região mais caudal do intestino embrionário sendo regulado por uma série complexa de eventos de desenvolvimento, incluindo a especificação de células progenitoras (HYTTEL; SINOWATZ; VEJLSTED, 2012; NISSIM et al., 2016). Durante o processo gestacional, cresce rápido e expande-se ocupando a maior parte da cavidade abdominal. Apesar de este sistema sofrer diferenciação embriogênica precoce, muitas das funções metabólicas não são completamente desenvolvidas ao nascimento (GRUNDY, 2006; HYTTEL; SINOWATZ; VEJLSTED, 2012).

2.2.3 Rins

A nefrogênese inicia-se com três gerações sucessivas de primórdios renais: pronefro, mesonefro e metanefro. Os eventos importantes na vida fetal que precedem a aquisição da função renal incluem: indução de populações de células progenitoras que se diferenciarem em células específicas, o desenvolvimento e diferenciação de glomérulos e vascularização, diferenciação segmentar-específica dos túbulos renais e diferenciação terminal dos compartimentos celulares (LINTON et al., 2007).

A função renal fetal durante o período de gestação ocorre por meio de mudanças sucessivas, tanto fisiológicas como morfológicas. O conhecimento deste processo é importante uma vez que a urina, durante a última metade da gestação, é a principal fonte de líquido amniótico e, embora imaturo, o rim fetal, durante seu período de formação contribui para a sobrevivência do concepto durante seu crescimento (CANELLO et al., 2015).

2.2.4 Placentônios

A placenta dos mamíferos é um órgão transitório formado pela justaposição entre os tecidos maternos e fetais, sendo responsável pelas trocas fisiológicas e síntese de hormônios fundamentais para a manutenção da gestação. As células placentárias possuem propriedades metabólicas, endócrinas e angiogênicas específicas e são essenciais para o desenvolvimento adequado do concepto. Em ruminantes possui uma estrutura

macroscópica uniforme: os placentônios (CUNNINGHAM, 1999; HAFEZ; HAFEZ, 2004). Estas estruturas durante a gestação crescem e aumentam de tamanho (no ínicio são planos e arredondados; com a progressão tomam forma anular com bordas proeminentes, com concavidade diretamente dirigida ao feto) (AISEN, 2008; HAFEZ; HAFEZ, 2004).

2.3 Ultrassonografia gestacional em ovelhas

O uso do exame ultrassonográfico em tempo real na reprodução animal representou um grande avanço no conhecimento científico dessa área. Na veterinária, o primeiro uso da ultrassonografia foi no diagnóstico gestacional de ovelhas, na década de 60. Especificamente em pequenos ruminantes, a difusão do exame ultrassonográfico torna-se mais relevante que de outras espécies de criação (como bovinos e equinos), em virtude da impossibilidade de palpação retal, possibilitando o diagnóstico obstétrico, detecção de prenhez e estudos científicos e aprimoramento do manejo e biotécnicas reprodutivas nas fêmeas ovinas (OLIVEIRA et al., 2014).

Para a detecção de prenhez em ovelhas, a ultrassonografia modo B é considerada um método seguro e de fácil aplicação, podendo ser utilizada via transretal a partir do 15º dia pós-cobertura, com a visibilização de líquido no útero; e confirmação diagnóstica da gestação a partir do dia 21 pós-cobertura, quando é possível verificar a presença do embrião, caracterizado como uma estrutura hiperecoica localizada no interior da vesícula embrionária. Neste período inicial, já se pode ser verificada a presença dos batimentos cardíacos e placentônios (pequenas áreas ecogênicas na superfície do endométrio) (DESCÔTEAUX et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2014).

A avaliação ultrassonográfica gestacional via transretal (Figura 1A) é realizada com a utilização de transdutor linear com frequência de 7,5 MHz. Para tanto, o animal deve ser mantido em posição quadrupedal, podendo ter a parede abdominal comprimida para facilitar a visibilização das estruturas uterinas. Após a aplicação de gel e introdução do transdutor no canal retal, este deve ser lentamente rotacionado em ‘movimento de leque’, para esquerda e direita (KÄHN, 1994).

A abordagem transabdominal (Figura 1B) é recomendada a partir dos 50 dias de gestação. Neste momento, a ultrassonografia transretal é prejudicada

pelo tamanho demasiado do feto, o que dificulta a avaliação e distinção de boa parte das estruturas materno fetais. O método transabdominal permite a identificação de uma maior porção do útero gravídico, podendo ser utilizada para monitoração da viabilidade gestacional ou ainda detecção de prenhez (KÄHN, 1994; DESCÔTEAUX et al., 2010).

Para o exame transabdominal, transdutores convexos e de frequências menores são preferidos (3,5 a 4,5 MHz). A tricotomia ampla de toda a região inguinal e abdominal deve ser realizada previamente. O exame pode ser realizado com o animal em estação, sentado ou ainda em decúbito, entretanto, observa-se que a posição em estação é eficiente e mais confortável para o animal. O transdutor deve ser posicionado na região inguinal direita, angulando-se em direção ao útero e promovendo a varredura completa em direção cranial. Para facilitar o posicionamento do examinador o animal pode ser colocado sobre uma superfície elevada (Figura 2) (FTHENAKIS et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014).

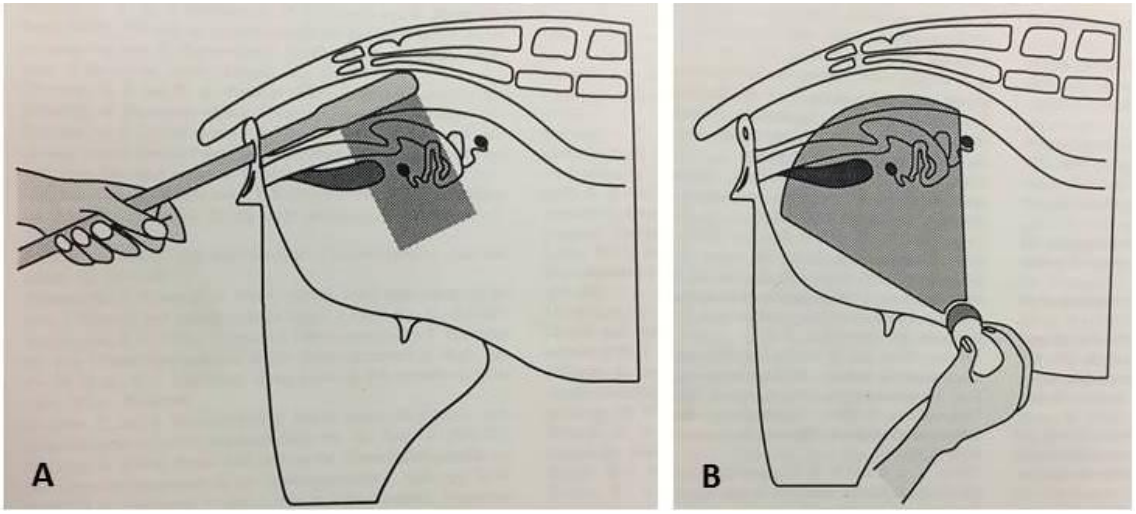

Figura 1. Esquema do sistema reprodutor da fêmea ovina, com posicionamento dos transdutores pela abordagem A) transretal e B) transabdominal (KÄHN, 1994).

Em ovelhas gestantes, a ultrassonografia vem sendo utilizada para diagnóstico da gestação desde os anos 80 (WHITE et al., 1984). Sua aplicabilidade foi reiterada por Scott & Sargison (2010) que citam informações relevantes sobre a técnica como: precisão maior que 99% para diagnóstico de prenhez, mais de 98% de precisão na diferenciação entre fêmeas não prenhes, com gestação

simples ou gemelar, e determinação da quantidade de fetos de 97% foram alcançadas utilizando a ultrassonografia no acompanhamento gestacional.

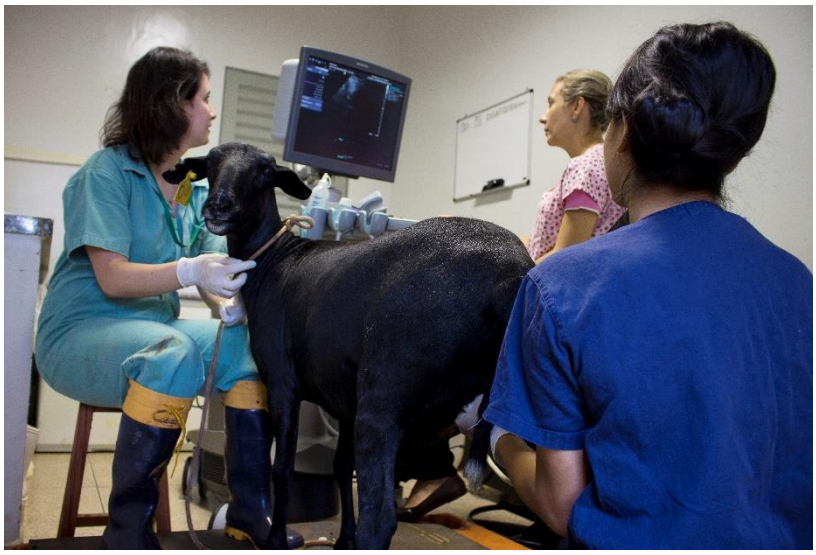

Figura 2. Imagem fotográfica de exame elastográfico de ovelhas Santa Inês, com animal em estação e transdutor localizado em região inguinal.

De forma geral, o acompanhamento gestacional das ovelhas visa garantir o correto desenvolvimento da gestação e nascimento de animais saudáveis, com condições ótimas de desenvolvimento e peso (FTHENAKIS et al., 2012). O diagnóstico gestacional ultrassonográfico contribui para aumentar a eficiência reprodutiva dos animais, de modo a adequar precocemente o manejo às novas necessidades da fêmea gestante. Com o uso da ultrassonografia, é possível estimar a maturação fetal (nas diferentes fases do desenvolvimento do concepto) por meio da detecção do aparecimento de membros, encéfalo, calcificação e vísceras como o fígado, coração, rins, intestinos, estômago e vesícula urinária (AISSI et al., 2008; DAVIDSON & BAKER, 2009).

2.4 Elastografia Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI)

A elastografia é considerada um método diagnóstico promissor que permite a avaliação da elasticidade dos tecidos (DUDEA et al., 2011). Consiste em uma técnica de imagem, segura e não invasiva, que fornece medidas quantitativas e qualitativas da rigidez dos tecidos com uma variabilidade interobservador reduzida.

O software da elastografia ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse) é diretamente integrado a um aparelho específico de ultrassonografia (Acuson S2000, Siemens AG, Erlangen, Alemanha) e a onda de cisalhamento é localizada, permitindo a seleção da área de interesse de mensuração pelo operador em modo B e em tempo real (CASSINOTTO et al., 2014). Essa onda de pressão se propaga e permite estimar a elasticidade tecidual e calcular a velocidade da onda de cisalhamento nos diferentes tecidos pelo deslocamento das ondas transversais (FRIEDRICH-RUST et al., 2009).

A magnitude do deslocamento é inversamente proporcional e a velocidade da onda de cisalhamento é diretamente proporcional à rigidez tecidual local. Um único transdutor é usado tanto para aplicar forças de radiação localizadas dentro do tecido por curtos períodos de tempo como para rastrear os deslocamentos de tecido resultantes. Os resultados são expressos em metros por segundo (m/s), esta velocidade de propagação da onda de cisalhamento é proporcional à raiz quadrada da elasticidade do tecido (GOERTZ et al., 2016).

Para avaliação qualitativa, este método utiliza impulsos acústicos curtos e de alta intensidade para deformar os elementos do tecido e criar um mapa estático (elastograma) de rigidez tecidual relativa. A avaliação elastográfica qualitativa (Figura 3A) fornece mapeamento em escala de cinza que demonstra a rigidez relativa dos tecidos da região estudada, comparando-se com a imagem ultrassonográfica convencional correspondente. De forma geral, as áreas mais claras representam os tecidos mais deformáveis do que as áreas escuras (GODDI et al., 2012).

O estudo quantitativo ARFI utiliza um impulso acústico primário em direção a uma região de interesse, promovendo a formação de ondas de pressão em propagação, capazes de deformar os tecidos, captando a velocidade de propagação das ondas de pressão (cisalhamento). A velocidade de propagação e a atenuação das ondas estão relacionadas com a rigidez e viscoelasticidade do tecido. O estudo quantitativo (Figura 3B) tem se mostrado promissor para a análise quantitativa da rigidez difusa de tecidos, diferenciação de lesões malignas e benignas, com base no estudo da rigidez absoluta e na monitorização da progressão de uma enfermidade (NIGHTINGALE, 2011; FELICIANO et al., 2014a).

Em veterinária, a ARFI é um método de imagem recente e tem sido usada na avaliação de neoplasias mamárias em cadelas (FELICIANO et al., 2014b), afecções testiculares em cães (FELICIANO et al., 2016). Também já foi utilizada para padronização de valores de referência na avaliação hepática, renal e esplênica em caninos adultos (HOLDSWORTH et al., 2014), baço de gatos adultos (FELICIANO et al., 2014c), baço de cães de diferentes idades (MARONEZI et al., 2015), próstata e testículos de cães (FELICIANO et al., 2015b), rim de gatos (GARCIA et al., 2015), testículo de gatos (BRITO et al., 2015) e no estudo do desenvolvimento do parênquima pulmonar e hepático de fetos caninos (SIMÕES, 2016).

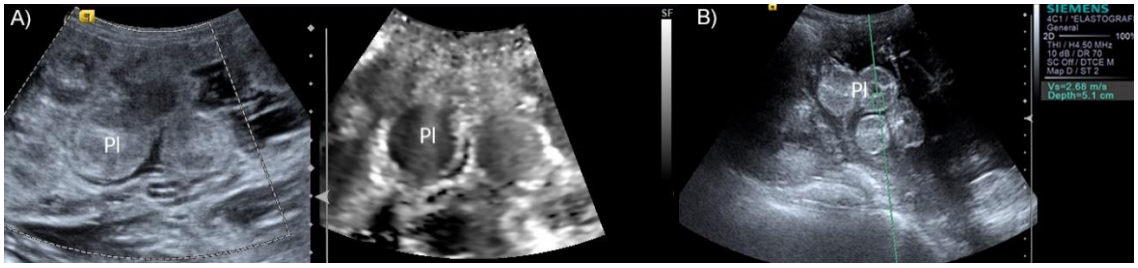

Figura 3. Elastografia ARFI fetal de ovinos. A) Avaliação qualitativa (elastograma) de placentônio (pl). B) Avaliação quantitativa de placentônio (pl) com valores de velocidade de cisalhamento e profundidade.

Em estudo preliminar realizado por Peralta et al. (2015), utilizaram a técnica elastográfica (*Supersonic shear imaging*) para avaliar a rigidez do colo uterino de ovelhas gestantes (127 dias de gestação), visando acompanhar as modificações estruturais dessa porção após a indução do parto, com utilização de dexametasona. Estes autores verificaram uma diminuição da velocidade de cisalhamento nas primeiras 4 a 8 horas após aplicação do fármaco sugerindo que a elastografia pode complementar o diagnóstico de nascimentos prematuros em ovinos.

Em babuínos gestantes, Quarello et al. (2016) demonstraram a aplicabilidade e viabilidade da realização do método elastográfico (*Supersonic sherar imaging*) na avaliação gestacional desta espécie, determinando caraterísticas da rigidez dos tecidos plancetários (QUARELLO et al., 2015a) e órgãos fetais como pulmão e cérebro (QUARELLO et al., 2015b). De acordo com estes autores, o desenvolvimento de estudos elastográficos em animais,

além de demonstrar a importância deste método no estudo da gestação dos babuínos, fornece valores relevantes para serem aplicados em humanos.

3. Referências

AISEN, E.G. **Reprodução ovina e caprina**. 1ª. ed., MedVet, São Paulo, 2008. p.116-130.

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

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

CANELLO, F.G.; ALMEIDA, V.T.; KAWANAMI, A.E.; FERREIRA, G.S.; ORTOLAN, M.D.D.V.; OLIVEIRA, M.E.F.; FELICIANO, M.A.R.; VICENTE, W.R.R. Estudo da maturidade fetal canina em fase final de gestação: aplicabilidade diagnóstica. **Veterinaria e Zootecnia**, v.22, n.4, p.513-52, 2015.

CASSINOTTO, C.; LAPUYADE, B.; MOURIES, A. HIRIART,J.; VERGNIOL, J.; GAYE, D.; CASTAIN, C.; LE BAIL, B.; CHERMAK, F.; FOUCHER, J.; LAURENT, F.; MONTAUDON, M.; DE LEDINGHEN, V. Non-invasive assessment of liver fibrosis with impulse elastography: Comparison of Supersonic Shear Imaging with ARFI and FibroScan. **Journal of Hepatology**, v.61, p.550–557, 2014.

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

CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 1999. 528p

CURRIE, W. B. Regression of the corpus luteum of pregnancy and initiation of labour in goats. **Journal of reproduction and fertility**. v.36, p. 481-482, 1934.
DAVIDSON, A.P.; BAKER, T.W. Reproductive ultrasound of the bitch and queen. **Topics in Companion Animal Medicine**, v.4, n.2, p.55- 63, 2009.

DESCÔTEAUX, L.; GNEMMI, G.; COLLOTON, J. **Practical Atlas of Ruminant and Camelid Reproductive Ultrasonography**. USA: Blackwell Publishing. 2010. p. 181-194.

DROZDOWSKA, J.; COUSENS, C.; FINLAYSON, J.; COLLIE, D.; DAGLEISH, M.P. Structural Development, Cellular Differentiation and Proliferation of the Respiratory Epithelium in the Bovine Fetal Lung. **Journal of Comparative Pathology**, v.154, p.42-56, 2016.

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

FELICIANO, M. A. R.; MARONEZI, M. C.; SIMÕES, A. P. R.; MACIEL, G. S.; PAVAN, L.; GASSER, B.; SILVA P.; USCATEGUI, R. R.; CARVALHO, C.F.; CANOLA, J. C.; VICENTE, W. R. R. Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of testicular disorders in dogs: preliminary results. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 2, p. 283-291, 2016.

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

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

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

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

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

FINK, M. Elastography: a new modality of ultrasound imaging. **Diagnostic and Interventional Imaging**, v.94, p.485, 2013.

FRIEDRICH-RUST, M.; WUNDER, K.; KRIENER, S.; SOTOUDEH, F.; RICHTER, S.; BOJUNGA, J.; HERRMANN, E.; POYNARD, T.; DIETRICH, C.F.; VERMEHREN, J.; ZEUZEM, S.; SARRAZIN, C. Liver fibrosis in viral hepatitis: noninvasive assessment with acoustic radiation force impulse imaging versus transient elastography. **Radiology**, v. 252, n. 2, p. 595-604, 2009.

FTHENAKIS, G.C.; ARSENOS, G.; BROZOS, C.; FRAGKOU, I. A.; GIADINIS, N. D.; GIANNENAS, I.; MAVROGIANNI, V. S.; PAPADOPOULOS, E.; VALASI, I. Health management of ewes during pregnancy. **Animal Reproduction Science**, v.130, p.198–212, 2012.

GARCIA, P. H. S.; FELICIANO, M. A. R.; CARVALHO, C. F.; CRIVELLENTI, L. Z.; MARONEZI, M. C.; ALMEIDA, V. T.; USCATEGUI, R. R.; VICENTE, W. R.

R. Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of kidneys in healthy adult cats: preliminary results. **Journal of Small Animal Practice**, v.56, n.8, p.505-509, 2015.

GENNISSON, J.L.; DEFFIEUX, T.; FINK, M.; TANTER, M. Ultrasound elastography: Principles and techniques. **Diagnostic and Interventional Imaging**, v.94, p.487-495, 2013.

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

GOERTZ, R.S.; SCHUDERER, J.; STROBEL, D.; PFEIFER, L.; NEURATH, M.F.; WILDNER, D. Acoustic radiation force impulse shear wave elastography (ARFI) of acute and chronic pancreatitis and pancreatic tumor. **European Journal of Radiology**, v.85, p.2211–2216, 2016.

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

HAFEZ, E. S. E; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. São Paulo: Manole, 2004. 513p

HYTTEL, P.; SINOWATZ, F.; VEJLSTED, M. Embriologia veterinária. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2012. 472 p.

HOLDSWORTH, A.; BRADLEY, K.; BIRCH, S.; BROWNE, W. J, BARBERET, V. Elastography of the normal canine liver, spleen and kidneys. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v.55, p.620-62, 2014.

JAINUDEEN, M.R.; HAFEZ, E.S.E.; Gestation, prenatal physiology and parturition. In: HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. (Eds.), **Reproduction in Farm Animals**. 7ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 140–155.

JOSHI, S.; KOTECHA, S. Lung growth and development. **Early Human Development**, v.83, p.789–794, 2007.

KÄHN, W. **Veterinary Reproductive Ultrasonography**. London: Mosby-Wolf, 1994. p.187-205.

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

KOTECHA, S. Lung growth for beginners. **Pediatric Respiratory Reviews**, v.1, p.308–313, 2000.

LINTON, J.M.; MARTIN, G.R.; AND REICHARDT, L.F. The ECM protein nephronectin promotes kidney development via integrin alpha8beta1-mediated stimulation of Gdnf expression. **Development**, v.134, p.2501–2509, 2007.

LUZ, J.H. **Teste das microbolhas estáveis na avaliação da função surfatante in vitro** [dissertação]. Porto Alegre (RS): Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2001.

MARONEZI, M. C.; FELICIANO, M. A. R.; CRIVELLENTI, L. Z.; SIMÕES, A. P. R.; BARTLEWSKI, P. M.; GILL, I.; CANOLA, J. C.; VICENTE, W. R. R. Acoustic radiation force impulse elastography of the spleen in healthy dogs of different ages. **Journal of Small Animal Practice**, v.56, p.393-397, 2015.

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

NIGHTINGALE, K. Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) Imaging: a Review. **Current Medical Imaging Reviews**, v.7, p.328-339, 2011.

NISSIM, S.; WEEKSB, O.; TALBOTD, J. C.; HEDGEPETHB, J. W.; WUCHERPFENNIGB, J.; SCHATZMAN-BONEB, S.; SWINBURNEE, I.; CORTES, M.; ALEXAB, K.; MEGASONE, S.; NORTHF, T. E.; AMACHERD, S. L.; GOESSLING, W. Iterative use of nuclear receptor Nr5a2 regulates multiple stages of liver and pancreas development. Developmental Biology, v. 418, n.1, p.108–123, 2016

OLIVEIRA, M.E.F.; FELICIANO, M.A.R.; VICENTE, W.R.R. **Ultrassonografia do Sistema Reprodutor Feminino de Pequenos Ruminantes**. In: FELICIANO, M.A.R.; OLIVEIRA, M.E.F.; VICENTE, W.R.R. Ultrassonografia na Reprodução. São Paulo: Med Vet. 2014. p.121-140.

PERALTA, L.; MOURIER, E.; RICHARD, C.; CHARPIGN, G.; LARCHER, T.; AÏT-BELKACEM, D.; BALLA, N.K.; BRASSELET, S.; TANTER, M.; MULLER, M.; CHAVATTE-PALMER, P. In vivo evaluation of cervical stiffness evolution during induced ripening using shear wave elastography, histology and 2 photon excitation microscopy: insight from an animal mode. **PLoS ONE**, v.10, n.8, p.1-21, 2015.

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

QUARELLO, E.; LACOSTE, R.; MANCINI, J.; MELOT—DUSSEAUD, S.; GORINCOUR, G. ShearWave elastography of fetal lungs in pregnant baboons. **Diagnostic and Interventional Imaging**, v.97, p.605—610, 2016.

QUARELLO, E.; LACOSTE, R.; MANCINI, J.; MELOT-DUSSEAU, S.; GORINCOUR, G. Shear waves elastography of the placenta in pregnant baboon. **Gynécologie Obstétrique & Fertilité**, v.43, p.200-204, 2015a.

QUARELLO, E.; LACOSTE, R.; MANCINI, J.; MELOT-DUSSEAU, S.; GORINCOUR, G. Feasibility and reproducibility of ShearWave (TM) elastography of fetal baboon organs. **Prenatal Diagnosis**, v.35, p.1112-1116, 2015b.

SCOTT, P.R., SARGISON, N.D. Ultrasonography as an adjunct to clinical examination in sheep. **Small Ruminant Research**, n. 92, p.108-119, 2010.

SIMÕES, A. P. R. **Ultrassonografia modo B e elastografia ARFI pulmonar e hepática fetal como método preditivo para a maturidade dos conceptos em fase final de gestação de cadelas**. 2016. 59f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária - Reprodução Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, 2016.

SPENCER, T.E.; JOHNSON, G.A.; BAZER, F.W.; BURGHARDT, R.C. Implantation mechanisms: insights from the sheep. **Reproduction** v.128, p.657–668, 2004.

TABORDA, W.; ALENCAR JUNIOR, C.A.; BERTINI, A.M. **Avaliação da maturidade fetal**. In: BENZECRY, R.; OLIVEIRA, H.C.; LEMGRUBER, I. Tratado de obstetrícia. Rio de Janeiro: Revinter; 2000. p.873-85.

WHITE, I.R., RUSSEL, A.J., FOWLER, D.G. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and the determination of fetal numbers in sheep. **Veterinary Research**, n.115, p.140–143, 1984.

CAPITULO 2 - Elastografia Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) de tecidos materno fetais em ovinos gestantes

Priscila Del Aguila da Silva*, Ricardo Andrés Ramirez Uscategui†, Victor José Correia Santos*, Augusto Ryonosuke Taira*, Renata Sitta Gomes Mariano*, Mariana Garcia Kako Rodrigues*, Ana Paula Rodrigues Simões*, Marjury Cristina Maronezi†, Michelle Lopes Avante†, Wilter Ricardo Russiano Vicente*, Marcus Antonio Rossi Feliciano¶

*UNESP – Univ. Estadual Paulista, FCAV, *Departamento de Reprodução Animal. Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP: 14884-900, Jaboticabal, Sao Paulo, Brazil*

†UNESP – Univ. Estadual Paulista, FCAV, *Departamento de Clínica Cirúrgica. Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP: 14884-900, Jaboticabal, Sao Paulo, Brazil*

¶Corresponding author - e-mail: marcusfeliciano@yahoo.com.br. UNESP – Univ. Estadual Paulista, FCAV, *Departamento de Reprodução Animal. Address: Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. Postal Code: 14884-900, Jaboticabal, Sao Paulo, Brazil*' Phone: +55 16 32092633

PALAVRAS-CHAVE: elastografia, gestação, desenvolvimento fetal, ultrassonografia

RESUMO

Objetivos: Avaliar a rigidez tecidual dos placentônios, pulmões, fígado e rins fetais, por meio da elastografia acoustic radiation force impulse (ARFI), correlacionando os resultados com o desenvolvimento gestacional de ovelhas.

Métodos: Vinte e quatro ovelhas gestantes foram incluídas no estudo. A rigidez tecidual de placentônios, pulmão, fígado e rins fetais foi determinada semanalmente (totalizando 12 semanas de avaliação), desde a decima semana até a parição, por meio da elastografia ARFI qualiquantitativa. As características da rigidez avaliadas pelo elastograma foram comparadas qualitativamente entre os tecidos e os valores para velocidade de cisalhamento (m/s) dos tecidos foram comparados entre as semanas gestacionais utilizando teste de Friedman e correlacionada com modelos matemáticos de regressão.

Resultados: Ao elastograma, os tecidos avaliados não se apresentaram deformáveis, com caraterísticas de rigidez diferentes entre si (placentônio - cinza escuro; tecido renal - cinza escuro e tonalidade abaixo do placentônio; fígado - cinza médio; e pulmão - cinza médio e tonalidade abaixo do fígado). As velocidades de cisalhamento renal e do placentônio apresentaram-se constantes durante o período gestacional (P= 0,076 e 0,34, respectivamente), enquanto que os valores desta variável para pulmão e fígado variaram ao longo da gestação (P < 0,001) e foram estreitamente correlacionadas com a idade gestacional (R2 = 0,80). A velocidade de cisalhamento pulmonar decaiu gradativamente a partir da 16ª semana gestacional enquanto a velocidade hepática aumentou a partir da 14ª semana atingindo o máximo na última semana de gestação.

Conclusões: A elastografia ARFI demostrou ser uma técnica prática e segura para a avalição do binômio materno-fetal, permitindo identificar os padrões de rigidez qualiquantitativos do placentônio, pulmão, fígado e rim fetais; assim como acompanhar o desenvolvimento gestacional das ovelhas por meio dos resultados da velocidade de cisalhamento dos tecidos pulmonares e hepáticos. Sugere-se que este método pode ser utilizado para estudos fisiológicos e patológicos na gestação de diversas espécies mamíferas.

INTRODUÇÃO

A elastografia é um método ultrassonográfico desenvolvido no início dos anos 90 por Ophir et al.[1], que consiste na avaliação da elasticidade tecidual, permitindo uma "espécie de palpação virtual".[2,3] Dentre as diferentes modalidades existentes, a técnica Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) tem demostrado relevante utilidade na avaliação de neoplasias mamárias[4] e afecções testiculares em cães[5], com padronização de valores de referência para a avaliação hepática, renal, esplênica, prostática e testicular em caninos adultos[6,7,8] e baço de gatos adultos.[9]

Recentemente esta ferramenta diagnóstica tornou-se objeto de diversas pesquisas na área de ginecologia e obstetrícia. Em medicina, o estudo da elasticidade da cérvix em mulheres caracterizou a rigidez deste tecido durante a gestação, tornando-se importante para a avaliação da indução do parto das pacientes[10,11]. Em ovelhas prenhes, verificou-se por meio da elastografia "Shear Wave" que as estruturas da cérvix sofrem adaptações durante o processo gestacional[12]. Especificamente em tecidos fetais, dois estudos foram encontrados na literatura, com babuínos como modelo experimental[2] e outro em fetos humanos,[13] ambos demonstrando a aplicabilidade e viabilidade da elastografia e sua correlação com o desenvolvimento gestacional nestas espécies. Apesar dos estudos supracitados e da aplicabilidade da ARFI em vários tecidos humanos e animais, este método diagnóstico ainda não foi aprovado para uso em avaliações fetais pela Food and Drug Administration (FDA)[2].

A caraterização do desenvolvimento de tecidos materno-fetais é fundamental na avaliação pré-natal das fêmeas gestantes, tanto para avaliar a viabilidade da gestação como para estimar a idade gestacional ultrassonográfica[14]. Neste sentido, hipotetizamos que a elastografia determina modificações na rigidez dos tecidos materno-fetais, durante a gestação, permitindo estudar o desenvolvimento destes tecidos. Para tanto, objetiva-se avaliar a rigidez

tecidual dos placentônios, pulmões, fígado e rins fetais, por meio da elastografia ARFI, correlacionando os resultados com o desenvolvimento gestacional normal de ovelhas.

MÉTODOS

Vinte e quatro ovelhas da raça Santa Inês, multíparas, com peso entre 40 e 60 quilos e idade entre dois e cinco anos, foram selecionadas para este estudo após serem consideradas hígidas e sem histórico de doenças reprodutivas. Como exame prévio dos animais, foram realizados exames físico, obstétrico e hemograma. Os animais são oriundos do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP/Jaboticabal, Brasil, mantidos em aprisco de experimentação, alimentados com silagem de milho, ração comercial balanceada, sal mineral e água *ad libitum*. O procedimento experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (protocolo nº 10.387/16) da própria instituição.

Após seleção das fêmeas, os animais foram submetidos a um protocolo de sincronização de estro: colocação de dispositivo intravaginal contendo 0,33 g de progesterona (Eazi breed CIDR®, Pfizer, Nova Zelândia) no dia 0; aplicação de 37,5 µg de cloprostenol (Sincrocio®, Ourofino, Cravinhos, SP, Brasil) e 300 UI de Gonadotrofina coriónica equina (Novormon® Coopers MSD, Brasil) no 5º dia; e retirada do implante no 6º dia. Após 24 horas, estas fêmeas foram alocadas com dois reprodutores utilizando buçal marcador, para facilitar a identificação dos animais cobertos, por um período de 72 horas. Vinte um dia após, foi realizada avaliação ultrassonográfica transretal para diagnóstico gestacional, com o dia da cobertura identificado mediante a marcação de tinta, considerado como o dia 0 da gestação.

Para as avaliações ultrassonográficas, os animais foram mantidos em posição quadrupedal e com a cabeça voltada para o monitor. Antes dos exames, foi aplicado gel específico para realização da ultrassonografia e o transdutor posicionado em região inguinal direita.[15]

Utilizou-se aparelho ACUSON S2000 (SIEMENS, Munich, Germany) com software para caracterização elastográfica qualiquantitativa (método ARFI - Virtual Touch Tissue Quantification)[16] e transdutor convexo, multifrequencial e matricial, de 4,5 MHz. A realização dos exames ultrassonográficos ocorreu semanalmente, com início a partir da décima (64 a 70 dias) semana gestacional (SG), estendendo-se até a última semana de gestação (148 a 154 dias) das fêmeas.

Após localização das estruturas pulmonares, renais e hepática dos conceptos e placentônios utilizando a ultrassonografia modo-B (cortes longitudinais e transversais), utilizou-se a elastografia qualitativa para determinar o elastograma dos tecidos (avaliação da rigidez tecidual relativa), obtendo-se imagens em tons de cinza: regiões claras (mais elástico - menos rígido) e regiões escuras (menos elásticas - mais rígidas). Posteriormente, foram determinados os valores médios para velocidade de cisalhamento (m/s) dos tecidos e a profundidade destas avaliações, por meio da obtenção de três amostragens pela técnica ARFI quantitativa.[17]

Para a análise estatística, utilizou-se software R-project (R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria). O delineamento experimental foi casualizado em blocos (animais) e em parcelas subdivididas no tempo (semanas gestacionais). Previamente, foram testadas a normalidade dos resíduos (teste Shapiro) e homocedasticidade das variâncias (teste Barlett) de todas as análises quantitativas. A velocidade de cisalhamento dos diferentes tecidos analisados foi comparada entre as semanas gestacionais pelo teste de Friedman; caso o resultado deste teste resulta-se significativo, as medianas eram comparadas pelo pós-teste de Dunns e comprovados os contrastes ortogonais (linear, quadrático ou cúbico). A relação entre a velocidade e a profundidade da avaliação elastrográfica foi avaliada pelo teste de correlação de Spearman. O nível de significância utilizado foi de 5% para todos os testes ($P < 0,05$) e os dados são apresentados como a mediana ± intervalo interquartil (IQR).

RESULTADOS

Todos os animais apresentaram processo gestacional normal, sem qualquer evidência de anormalidades ou complicações ginecobstétricas. O tempo médio da gestação foi de 148 ± 1,8 dias, verificando-se 16 gestações simples, sete duplas e uma tripla. Nasceram 33 borregos saudáveis e sem quaisquer sinais de anormalidades.

À elastografia qualitativa, os tecidos avaliados apresentaram-se não deformáveis e, por meio do elastograma, as características da rigidez relativa permaneceram constantes, quanto à escala de cinzas estudada. Ao comparar as imagens dos diferentes tecidos, verificou-se a seguinte ordem decrescente de rigidez: placentônio (cinza escuro), tecido renal (cinza escuro, tonalidade abaixo do observado no placentônio), fígado (cinza médio) e pulmão (cinza médio, tonalidade abaixo do observado no fígado) (Figura 1).

Em relação à avaliação ARFI quantitativa (Figura 2), as velocidades de cisalhamento do pulmão (VCpulm) e fígado (VCfig) fetais variaram ao longo das semanas gestacionais ($P < 0,001$). A VCpulm decaiu a partir da 16ª semana, diminuindo gradativamente até a 21ª semana gestacional. Este efeito pôde ser explicado pelo modelo matemático cubico ($R^2 = 0,80$; Figura 3A):

$$VCpulm = 0,4 + 0,2 \times SG + 0,02 \times SG^2 + 0,0003SG^3$$

A VCfig apresentou aumento gradativo após a 14ª semana, atingindo seu valor máximo na 21ª semana gestacional, sendo este efeito explicado pelo modelo matemático linear ($R^2 = 0,80$; Figura 3B):

$$VCfig = 0,67 + 0,013 \times SG$$

As estruturas renais foram visibilizadas a partir da 11ª semana gestacional e suas velocidades de cisalhamento (VCrim), assim como as dos placentônios (VCplac), mantiveram-se constantes durante as semanas gestacionais avaliadas ($P = 0,076$ e $0,34$ respetivamente; Figura 3C e D). Ao correlacionar as velocidades obtidas com a profundidade

da avaliação e número de conceptos, não foram verificadas quaisquer influências destas variáveis (P > 0,05). Na Tabela 1 encontram-se sumarizadas as variáveis elastográficas quantitativas estudadas.

DISCUSSÃO

A avaliação elastográfica demonstrou-se aplicável, prática e de fácil execução, sem quaisquer efeitos adversos observados para o binômio materno-fetal. Determinou-se a rigidez dos placentônios, fígado, pulmões e rins fetais obtendo-se características qualiquantitativas a partir da 10ª até a semana do parto. A elasticidade hepática e pulmonar dos conceptos apresentaram modificações durante as semanas avaliadas e as velocidades de cisalhamento (VCfig e VCpulm) correlacionaram-se com o desenvolvimento gestacional. Tais resultados poderão ser utilizados como referencia para estudos fisiopatológicos na gestação de ovinos e extrapolados para pesquisa em outras espécies.

As anormalidades no desenvolvimento pulmonar são uma das principais causas de morbimortalidade neonatal em humanos e animais[22,23,24], sendo sua avaliação intrauterina um desafio clínico, principalmente devido à eficácia questionável dos testes utilizados e invasividade.[25,26] O desenvolvimento de técnicas acuradas e não invasivas como a elastografia podem incrementar positivamente o diagnóstico destas anormalidades.[27,28] São poucos os estudos que descrevem a utilização desta técnica na avaliação da rigidez pulmonar fetal[2,13] como fator indicativo de desenvolvimento. O presente estudo traz resultados importantes sobre a rigidez pulmonar utilizando modelo experimental ovino, espécie que compartilha características estruturais pulmonares com humanos (tamanho, fisiologia, ramificação dicotômica das vias aéreas, microanatomia das vias aéreas periféricas e desenvolvimento embrionário-fetal)[29,30], sugerindo que a elastografia ARFI permite identificar o desenvolvimento intrauterino do pulmão fetal.

As modificações na rigidez pulmonar observadas estão relacionadas diretamente com o desenvolvimento do tecido pulmonar na fase fetal.[20] Durante esta fase, espaços que futuramente serão preenchidos com ar são repletos com líquido produzido pelo próprio órgão, denominado de líquido pulmonar fetal, que os mantem distendidos, limitando a entrada de líquido amniótico e permite o crescimento e maturação estrutural.[31,32] Em ovinos, o volume deste liquido aumenta progressivamente na segunda metade da gestação, atingindo o máximo durante a última semana gestacional[33], corroborando com as modificações da rigidez pulmonar observadas na elastografia.

O desenvolvimento da estrutura pulmonar divide-se em estágios embrionário, pseudoglandular, canalicular, sacular e alveolar.[18] Em humanos e ovinos, o pulmão inicia o estágio alveolar aproximadamente quatro semanas antes do parto e se mantém até a vida neonatal.[30,33,34] Sendo a microestrutura similar nestas duas espécies, é consequente levantar a hipótese que a modificação da rigidez tecidual pulmonar intrauterina em ovinos possa ser uma variável estreitamente relacionada com o desenvolvimento deste órgão em humanos.

Estas alterações foram inicialmente descritas em estudo realizado em babuínos[2], observando-se correlação entre a elasticidade e idade gestacional, mediante modelos matemáticos lineares ou quadráticos, entretanto com baixos coeficientes de determinação ($R^2 < 0,2$). Nossos resultados apresentam melhores indicativos de que a rigidez pulmonar (VCpulm) correlaciona-se estreitamente com a idade gestacional, adaptando-se a um modelo matemático cúbico ($R^2 = 0,80$), demonstrando que o pulmão fetal a partir da 16ª semana gestacional torna-se cada vez menos rígido até o momento do parto. Estudo com fetos humanos[13] não demonstrou diferenças significativas para rigidez (VCpulm) durante o segundo e terceiro trimestre gestacional, com valores maiores (0,94 – 1,08 m/s) que os observados no presente estudo em ovinos (0,62 – 0,73 m/s).

Anomalias do desenvolvimento fetal podem afetar diretamente a estrutura hepática dos neonatos[35], como a restrição de crescimento intrauterino (RCIU) e colestase frequentemente observadas em humanos e associadas à natimortos e mortalidade perinatal.[36,37,38] A identificação destas anomalias na fase perinatal torna-se fundamental e estudos recentes[39] indicam a elastografia como técnica promissora para estes pacientes. Consideramos que os resultados obtidos no presente estudo, sobre a rigidez hepática fetal, podem fornecer dados clinicamente relevantes para a avaliação do desenvolvimento intrauterino deste tecido e favorecer a identificação de anormalidades que modificam sua estrutura.

Durante a fase embrionária, o broto hepático é formado e representa o principal sítio de hematopoese até o final da fase fetal, aproximadamente dois meses antes do parto em humanos.[19,40] Na fase fetal, as células hematopoiéticas migram da estrutura hepática para a medula óssea, promovendo a organização do fígado e de sua função, o que o torna maduro.[41] Estas modificações estruturais corroboram com o aumento gradativo da rigidez hepática observada nos conceptos ovinos, demonstrando que as características elastográficas são importante indicativo da transição estrutural hepática dos fetos.

Observou-se que a estrutura hepática fetal torna-se cada vez mais rígida correlacionando-se positivamente com a idade gestacional em modelo linear ($R^2 = 0,80$). Zheng et al.[13] não observaram diferenças significativas na rigidez do fígado fetal humano durante o segundo e terceiro trimestre gestacional, no entanto, os valores observados para VCfig (0,98 m/s - 1,13 m/s) neste estudo apresentam um aumento similar ao que nós observamos (0,79 - 0,96 m/s).

As estruturas renais e placentônios não apresentaram variações na rigidez tecidual durante a gestação. Especificamente para os rins fetais, sugere-se que as mudanças estruturais durante a gestação não promovem variações na elasticidade tecidual, detectáveis pela

elastografia. Com relação aos placentônios, estudos em bovinos demonstraram que esta unidade apresenta conformação semelhante ao longo do processo gestacional (áreas especializadas não glandulares e constituídas por tecido conjuntivo denso)[21], corroborando com os resultados constantes de rigidez. A avaliação placentária por meio da elastografia foi validada por Quarello et al.[42] em babuínos e Alan et al.[43] verificaram que na pré-eclâmpsia em mulheres a rigidez deste tecido é elevada, o que demonstra que nossos resultados podem contribuir para o estudo fisiopatológico destes tecidos.

Utilizando a elastografia qualitativa, verificou-se que os tecidos avaliados foram não deformáveis e apresentam diferentes características de rigidez (elastograma), justificada pelas suas composições teciduais.[18,19,20,21] Estas particularidades na elasticidade corroboram a importância do presente estudo ao determinar padrões diferenciais.

CONCLUSÃO

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

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

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

2. Quarello E, Lacoste R, Mancini J, Melot—Dusseaud S, Gorincour G. ShearWave elastography of fetal lungs in pregnant baboons. *Diagn Interv Imaging* 2016; **97** : 605-610.

3. Fink M. Elastography: a new modality of ultrasound imaging. *Diagn Interv Imaging* 2013; **94** : 485.

4. Feliciano MAR, Maronezi MC, Pavan L, Castanheira TL, Simões APR, Carvalho CF, Canola JC, Vicente WRR. ARFI elastography as complementary diagnostic method of mammary neoplasm in female dogs – preliminary results. *J Small Anim Pract* 2014; **55**: 504–508.

5. Feliciano MAR, Maronezi MC, Simões APR, Maciel GS, Pavan L, Gasser B, Silva P, Uscategui RR, Carvalho CF, Canola JC, Vicente WRR. Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of testicular disorders in dogs: preliminary results. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2016; **68** : 283-291.

6. Holdsworth A, Bradley K, Birch S, Browne WJ, Barberet V. Elastography of the normal canine liver, spleen and kidneys. *Vet Radiol Ultrasound* 2014; **55** : 620-662.

7. Feliciano MAR, Maronezi MC, Simões APR, Uscategui RR, Maciel GS, Carvalho CF, Canola JC, Vicente WRR. Acoustic radiation force impulse elastography of prostate and testes of healthy dogs: preliminary results. *J Small Anim Pract* 2015; **56** : 320-324.

8. Maronezi MC, Feliciano MAR, Crivellenti LZ, Simões APR, Bartlewski PM, Gill I, Canola JC, Vicente WRR. Acoustic radiation force impulse elastography of the spleen in healthy dogs of different ages. *J Small Anim Pract*, 2015; **56** : 393-397.

9. Feliciano MAR, Maronezi MC, Crivellenti LZ, Crivellenti SB, Simões APR, Brito MBS, Garcia PHS, Vicente WRR. Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of the spleen in healthy adult cats – a preliminary study. *J Small Anim Pract* 2014; **56** : 180-183.

10. Hernandez-Andrade E, Hassan SS, Ahn H et al. Evaluation of cervical stiffness during pregnancy using semiquantitative ultrasound elastography. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; **41** : 152–161

11. Hwang HS, Sohn IS, Kwon HS. Imaging analysis of cervical elastography for prediction of successful induction of labor at term. *J Ultrasound Med* 2013; **32** : 937–946.

12. Peralta L, Mourier E, Richard C, Charpign G, Larcher T, Aït-Belkacem D, Balla NK, Brasselet S, Tanter M, Muller M, Chavatte-Palmer P. In vivo evaluation of cervical stiffness evolution during induced ripening using shear wave elastography, histology and 2 photon excitation microscopy: insight from an animal mode. *PLoS One* 2015; **10** : 101-21.

13. Zheng XZ, Wu J, Tan XY. A novel approach to assessing fetal tissue stiffness using virtual touch tissue quantification. *Med Ultrason* 2016; **18** : 70-74.

14. Aissi A, Alloui N, Slimani C, Touri S. Preliminary study of the early ultrasonic diagnosis of pregnancy and fetal development in the dog. *J Anim Vet Adv* 2008; **7** : 607-611.

15. Viñoles-Gil C, Gonzalez-Bulnes A, Martin GB, Zlatar FS, Sale S. Sheep and Goats. In *Practical Atlas of Ruminant and Camelid Reproductive Ultrasonography*, Descôteaux L, Gnemmi G, Colloton J (eds). Willey-Blackwell: Iowa, 2010; 181-196.

16. Syversveen T, Brabrand K, Midtvedt K, Strom EH, Hartmann A, Jakobsen JA, Berstad AE. Assessment of renal allograft fibrosis by acoustic radiation force impulse quantification – a pilot study. *Transpl Int* 2011; **24** : 100-105.

17. Fierbinteanu-Braticevici C, Andronescu D, Usvat R, Cretoiu D, Baicus C, Marinoschi G. Acoustic radiation force imaging sonoelastography for noninvasive staging of liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2009; **15** : 5525-5532.

18. Corrin B. The structure of the normal lungs. In *Pathology of the Lungs*, Churchill Livingstone: London, 2010; 1-34.

19. Mclin VA, Zorn AM. Molecular control of liver development. *Clin Liver Dis* 2006; **10** : 11-25.

20. Drozdowska J, Cousens C, Finlayson J, Collie D, Dagleish MP. Structural Development, Cellular Differentiation and Proliferation of the Respiratory Epithelium in the Bovine Fetal Lung. *J Comp Path* 2016; **154** : 42-56.

21. Björkman N. Morphological and histochemical studies on the bovine placenta. *Acta Anatomica Suppl* 1954; **22** : 1-91.

22. Marin WB. Respiratory infections of sheep. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1996; **19** : 171-179.

23. Johnson CA. High-risk pregnancy and hypoluteoidism in the bitch. *Theriogenology* 2008; **70** : 1424–1430.

24. Martin J, Fanaroff A. The preterm lung and airway: past, present, and future. *Pediatr Neoatol* 2013; **54** : 228–234.

25. Prakash KNB, Ramakrishnan AG, Suresh S, Chow WP. Fetal lung maturity analysis using ultrasound image features. *IEEE Trans Inf Technol Biomed* 2002; **6** : 38–45.

26. Varner S, Sherman G, Lewis D, Owens S, Bodie F, McCathran CE, Holliday N. Amniocentesis for Fetal Lung Maturity: Will It Become Obsolete? *Rev Obstet Gynecol.* 2013; **6** : 126-134.

27. Podobnik M, Brayer B, Ciglar S, Duić Z, Podgajski M. Ultrasonic fetal and placental tissue characterization and lung maturity. *Int J Gynaecol Obstet* 1996; **54** : 221-229.

28. Kim SM, Park JS, Norwitz ER, Hwang EJ, Kang HS, Park CW, Jun JK. Acceleration time-to-ejection time ratio in fetal pulmonary artery predicts the development of neonatal respiratory distress syndrome: a prospective cohort study. *Am J Perinatal* 2013; **30** : 805-812.

29. Scheerlinck JP, Snibson KJ, Bowles VM, Sutton P. Biomedical applications of sheep models: from asthma to vaccines. *Trends Biotechnol* 2008; **26** : 259–266

30. Martineau HM, Dagleish MP, Cousens C, Underwood C, Forbes V, Palmarini M, Griffiths DJ. Cellular differentiation and proliferation in the ovine lung during gestation and early postnatal development 2013; *J Comp Path*, **149** : 255-267.

31. Hooper SB, Harding R. Fetal lung liquid: A major determinant of the growth and functional development of the fetal lung. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995; **22** : 235-247.

32. Harding R, Hooper SB. Regulation of lung expansion and lung growth before birth. *J Appl Physiol* 1996; **81** : 209-224.

33. Alcorn DG, Adamson TM, Maloney JE, Robinson PM. A morphologic and morphometric analysis of fetal lung development in the sheep. *Anat Rec* 1981; **201** : 655–667.

34. Burri PH. Structural aspects of postnatal lung development – alveolar formation and growth. *Biol Neonate* 2006; **89** : 313–322.

35. Hassan GMA, Sliem HA, Ellethy AT. Hepatic Embryonic Development and Anomalies of the Liver. *Journal of Gastroenterology and Hepatology Research* 2013; **2** : 489-493.

36. Jacobsson B, Ahlin K, Francis A, Hagberg G, Hagberg H, Gardosi J. Cerebral palsy and restricted growth status at birth: population-based case-control study. *BJOG* 2008; **115** : 1250–1255.

37. Champion V, Carbajal R, Lozar J, Girard I, Mitanchez D. Risk factors for developing transient neonatal cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; **55** : 592–598.

38. Jacquemin E, Lykavieris P, Chaoui N, Hadchouel M, Bernard O. Transient neonatal cholestasis: origin and outcome. *J Pediatr* 1998; **133** : 563–567.

39. Alison M, Biran V, Tanase A, Bendavid M, Blouet M, Demené C, Sebag1 G, Tanter M, Baud O. Quantitative Shear-Wave Elastography of the Liver in Preterm Neonates with Intra-Uterine Growth Restriction. *PLoS One* 2015; **10** : 1-14.

40. Zaret KS. Regulatory phases of early liver development: paradigms of organogenesis. *Nat Rev Genet* 2002; **3** : 499-512.

41. Zhao R, Duncan SA. Embryonic Development of the Liver. *Hepatology* 2005; **41** : 956-967.

42. Quarello E, Lacoste R, Mancini J, Melot-Dusseau S, Gorincour G. Shear waves elastography of the placenta in pregnant baboon. *Gynecol Obstet Fertil* 2015; **43** : 200-204.

43. Alan B, Tunç S, Agacayak E, Bilici A. Diagnosis of pre-eclampsia and assessment of severity through examination of the placenta with acoustic radiation force impulse elastography. *J Gynaecol Obstet* 2016; **135** : 43-46.

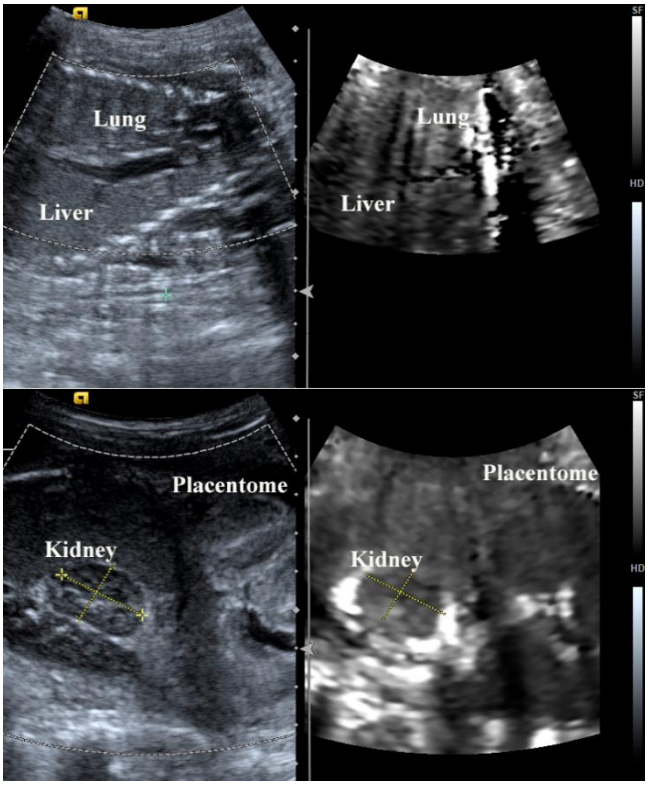

Figura 1: Imagens elastográficas qualitativas de fetos ovinos, demonstrando o elastograma e tonalidades de cinza observadas nos tecidos fetais pulmonar (Lg), hepático (Lv), renal (Kd) e placentônio (Pl) durante a gestação das ovelhas.

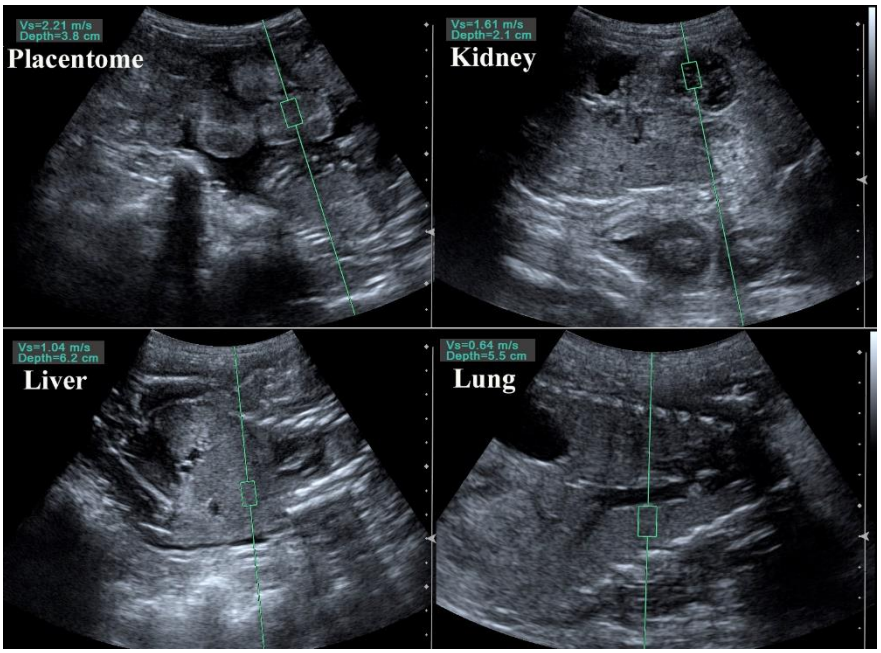

Figura 2: Imagens elastográficas quantitativas de fetos ovinos, para obtenção das velocidades de cisalhamento e profundidade da avaliação, dos tecidos fetais pulmonar

(Lung), hepático (Liver), renal (Kidney) e placentônio (Placentome) durante a gestação das ovelhas.

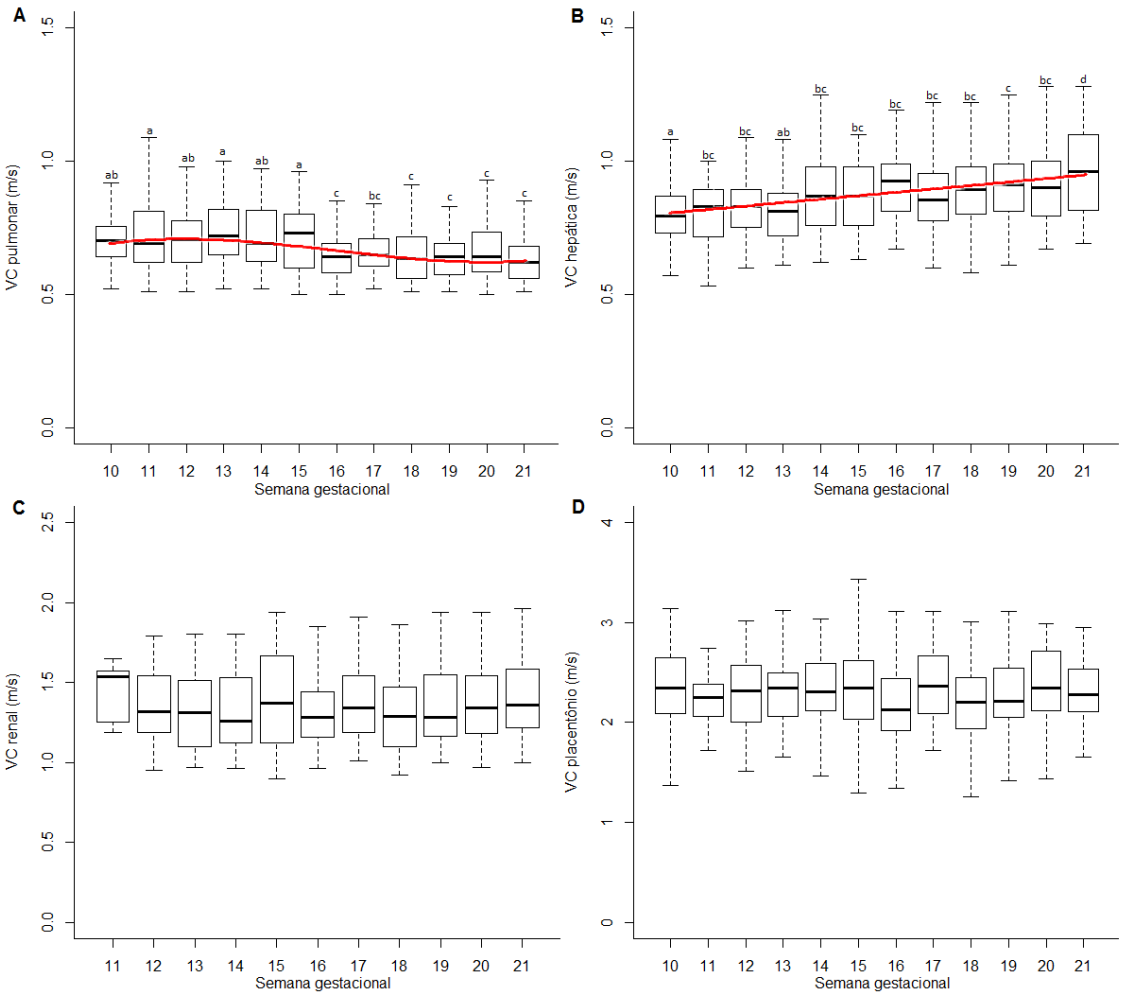

Figura 3: Ilustração gráfica da velocidade de cisalhamento (VC m/s) dos tecidos materno fetais das ovelhas: A) pulmão; B) fígado; C) estrutura renal; e D) placentônio; avaliadas a partir da 10ª à 21ª semanal gestacional. Letras iguais indicam semelhança estatística ($p > 0,05$) e as linhas vermelhas representam o modelo matemático que explica o comportamento da VC durante a gestação.

Tabela 1. Valores da mediana ± intervalo interquartil (IQR) e intervalo de confiança a 95% (IC95%) das velocidades de cisalhamento (SWV m/s) e profundidade de avaliação (Depth cm) do pulmão (Lung), fígado (Liver), rins (kidney) fetais e placentônio (Placentomes); avaliadas durante as semanas gestacionais 10 a 21 em ovelhas da raça santa Inês.

Variables	Gestational Weeks											
	10	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**	**21**
Lung SWV	0,70±0,11	0,69±0,19	0,71±0,15	0,72±0,17	0,69±0,19	0,73±0,20	0,64±0,11	0,65±0,10	0,64±0,15	0,64±0,11	0,64±0,14	0,62±0,12
CI95%	0,65-0,75	0,61-0,77	0,65-0,77	0,65-0,79	0,61-0,77	0,65-0,81	0,59-0,69	0,61-0,69	0,58-0,70	0,59-0,69	0,58-0,70	0,57-0,67
Depth	4,5±3,0	5,5±2,0	5,0±2,7	5,4±2,8	5,2±1,5	5,4±1,6	4,8±2,1	5,9±2,4	5,9±2,2	6,0±1,7	6,0±1,6	6,4±1,5
Liver SWV	0,79±0,14	0,83±0,18	0,83±0,14	0,81±0,16	0,88±0,22	0,88±0,18	0,92±0,18	0,85±0,17	0,89±0,18	0,91±0,18	0,90±0,20	0,96±0,28
CI95%	0,73-0,85	0,75-0,91	0,77-0,89	0,74-0,88	0,88-1,06	0,73-0,91	0,84-1,00	0,78-0,92	0,81-0,97	0,83-0,99	0,81-0,98	0,84-1,08
Depth	4,0±2,6	5,3±2,2	5,0±1,9	6,1±2,4	5,3±2,1	5,3±1,7	4,7±2,1	5,6±2,2	4,7±2,5	5,6±2,3	4,8±3,3	5,2±3,7
Kidney SWV	N/D	1,53±0,25	1,31±0,34	1,31±0,41	1,26±0,41	1,37±0,54	1,28±0,28	1,34±0,35	1,29±0,37	1,28±0,38	1,34±0,36	1,36±0,37
CI95%	N/D	1,42-1,63	1,17-1,45	1,14-1,48	1,09-1,43	1,14-1,60	1,16-1,40	1,19-1,49	1,13-1,45	1,12-1,44	1,19-1,49	1,20-1,52
Depth	N/D	3,8±2,2	4,5±1,5	4,3±2,8	4,6±2,6	4,1±2,1	3,5±2,4	2,7±1,5	2,7±2,2	3,0±1,2	3,0±3,1	2,9±0,9
Placentomes SWV	2,34±0,56	2,25±0,32	2,32±0,57	2,34±0,43	2,31±0,46	2,34±0,58	2,31±0,51	2,36±0,58	2,20±0,51	2,21±0,48	2,34±0,59	2,28±0,41
CI95%	2,10-2,58	2,11-2,38	2,08-2,56	2,16-2,52	2,12-2,50	2,09-2,58	1,91-2,34	2,11-2,60	1,98-2,41	2,01-2,41	2,09-2,59	2,11-2,45
Depth	4,0±1,9	4,1±1,9	3,5±1,5	3,7±2,4	3,0±2,0	3,3±1,9	3,0±1,6	2,7±1,9	2,7±2,7	2,4±1,4	2,6±1,3	3,3±2,2

N/D: Dados não disponíveis.