

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

**ULTRASSONOGRAFIA MODO B, DOPPLER E ELASTOGRAFIA DE
TECIDOS MATERNO FETAIS EM OVELHAS GESTANTES COM
PARTO NATURAL E PREMATURO INDUZIDO: ESTUDO DA
MATURIDADE DOS CONCEPTOS E MOMENTO IDEAL DE
PARTURIÇÃO**

Mariana Garcia Kako Rodriguez
Médica Veterinária

2019

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

**ULTRASSONOGRAFIA MODO B, DOPPLER E ELASTOGRAFIA DE
TECIDOS MATERNO FETAIS EM OVELHAS GESTANTES COM
PARTO NATURAL E PREMATURO INDUZIDO: ESTUDO DA
MATURIDADE DOS CONCEPTOS E MOMENTO IDEAL DE
PARTURIÇÃO**

Mariana Garcia Kako Rodriguez

Orientador: Prof. Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Andres Ramirez Uscategui

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

2019

R696u

Rodriguez, Mariana Garcia Kako

Ultrassonografia modo B, Doppler e Elastografia de tecidos materno fetais em ovelhas gestantes com parto natural e prematuro induzido : Estudo da maturidade dos conceptos e momento ideal de parturição / Mariana Garcia Kako Rodriguez. -- Jaboticabal, 2019

74 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Marcus Antônio Rossi Feliciano

Coorientador: Ricardo Andres Ramirez Uscategui

1. Reprodução. 2. Ultrassonografia veterinária. 3. Ovinos. 4. Maturidade fetal. 5. Trabalho de parto prematuro. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ULTRASSONOGRAFIA MODO B, DOPPLER E ELASTOGRAFIA DE TECIDOS MATERNO FETAIS EM OVELHAS GESTANTES COM PARTO NATURAL E PREMATURO INDUZIDO: ESTUDO DA MATURIDADE DOS CONCEPTOS E MOMENTO IDEAL DE PARTURIÇÃO

AUTORA: MARIANA GARCIA KAKO RODRIGUEZ

ORIENTADOR: MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO

COORDENADOR: RICARDO ANDRES RAMIREZ USCATEGUI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Reprodução Animal pela Comissão Examinadora:

p/ m. f. feliciano
Prof. Dr. MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO (VIDEOCONFERÊNCIA)
Setor de Diagnóstico por Imagem-UFSM / Santa Maria/RS

R. P. Nociti
Prof. Dr. RICARDO PERECIN NOCITI
FZEA/USP / Pirassununga/SP

m. padilha
Pós-doutoranda LUCIANA CRISTINA PADILHA NAKAGHI
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

p/ m. f. feliciano
Prof. Dr. FELIPE FARIAS PEREIRA DA CÂMARA BARROS (VIDEOCONFERÊNCIA)
Departamento de Medicina Veterinária e Cirurgia Veterinária-UFRRJ / Seropédica/RJ

V. J. Santos
Pós-doutorando VICTOR JOSÉ CORREIA SANTOS
Depto de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 06 de dezembro de 2019

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Mariana Garcia Kako Rodriguez– Nascida em Taubaté/São Paulo - Brasil, no dia 05 de abril de 1988. Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná/Unicentro, Campus de Guarapuava (2013). Possui especialização em Clínica Médica e Reprodução de Bovinos pela Universidade Tuiuti do Paraná (2013). Mestre em Medicina Veterinária, área de Reprodução Animal, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”/Unesp, Campus de Jaboticabal (2016). Tem experiência na área de Ultrassonografia, Fisiologia Reprodutiva e Biotecnologias da Reprodução em pequenos ruminantes. Atualmente, é doutoranda na mesma instituição na área de Reprodução Animal, durante o doutorado ministrou aulas, palestras e cursos, bem como realizou período sanduíche na Facultad de Veterinária/Universidad de la República (Udelar) – Uruguai, sob orientação do Prof. Rodolfo Ungerfeld na área de fisiologia da reprodução e bem-estar de pequenos ruminantes.

“Se você quer transformar o mundo, experimente primeiro promover o seu aperfeiçoamento pessoal e realizar inovações no seu próprio interior”

Dalai Lama

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais, meu porto seguro, José Rodriguez Garcia e Maria Elizabete Castilho Kako Rodriguez, por me apoiarem em todos os momentos e, mostrarem o quanto os bons valores são importantes, pelo amor e dedicação à mim, pelo exemplo de paciência, perseverança e luta, amo muito vocês!

Aos meus irmãos, Juliana, Rodrigo e Du, obrigada por estarem sempre ao meu lado, me estimularem a crescer e lutar pelos meus objetivos dando forças para não desistir.

Aos meus falecidos avós, Maria, Rosário e Odilo, por iluminarem meu caminho e serem meus anjos da guarda.

Aos meus queridos orientadores, Marcus e Ricardo, obrigada por sempre estarem presentes e serem mais que orientadores: amigos, dispostos a ajudar e caminhar de mãos dadas, por me acolherem e aconselharem, por se preocuparem com meu bem-estar pessoal e profissional, pelos ensinamentos, por me motivarem e incentivarem a me esforçar para conquistar meus sonhos, pelo afeto, compreensão, por toda ajuda e tempo oferecido à mim, muito obrigada!

Aos meus amigos e equipe maravilhosa: Victor, Marjury, Ana Paula, Priscilas, Renata, Migalha, Letícia, Vivian, Michele, Cristhian, obrigada pela sintonia, parceria, amizade, disposição, consideração, respeito, paciência na convivência diária, por toda colaboração e apoio, por serem um grupo muito unido, por serem mais que amigos e companheiros de trabalho, sem vocês o experimento não aconteceria.

Ao maior Mestre, professor Wilter, pessoa rara com um coração de ouro, obrigada pelo amparo e atenção.

As queridas Dra. Luciana Padilha, Beatriz Rodrigues e Raquel Castro pela ajuda em diferentes etapas deste estudo.

Aos meus amigos: Andresa, André, Flávio, Sicília, Nathan, todos da rep. Mada por me acolherem em momentos difíceis e me ajudarem sempre quando precisei.

Aos funcionários, especialmente Sr. Edson por estar sempre ao nosso lado auxiliando no trabalho, pela sua amizade.

A todos do Departamento de Reprodução Animal, que me receberam de “braços abertos” e estavam sempre disponíveis para qualquer assistência.

A professora Jane do Departamento de Zootecnia, por nos emprestar carneiros reprodutores.

Aos estagiários que me acompanharam, obrigada pelo respeito e cooperação.

Ao professor Rodolfo Ungerfeld, agradeço imensamente a grande oportunidade que me proporcionou em acompanhar as atividades de sua equipe na Facultad de Veterinária (Udelar), esta etapa foi extremamente importante para minha formação profissional e de grande valor para minha evolução pessoal.

A todos do departamento de fisiologia animal (Udelar), onde fui muito bem recebida, obrigada pelo aprendizado e acolhimento.

Ao Jair Matos e Simens Healthineers pela assistência técnica.

À todos que de alguma forma contribuíram neste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, Conselho Nacional para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - número do processo: 309199/2017-4) e da Fundação de Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP - números dos protocolos: 2017/14957-6 e 2019/09197-8).

SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRACT	v
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
Introdução.....	1
Revisão de Literatura	5
Resumo.....	5
Introdução.....	6
Últimas semanas gestacionais em ovinos.....	6
Parturição a termo.....	7
Parto prematuro.....	7
Ultrassonografia na última semana gestacional.....	8
Considerações finais.....	9
Referências.....	10
CAPÍTULO 2 – ESTUDO DE PREDITORES PARA PARTO NORMAL E PREMATURO EM OVELHAS SANTA INÊS	12
Resumo.....	12
Introdução.....	14
Conclusão.....	16
Referências.....	17
CAPÍTULO 3 – ULTRASSONOGRAFIA MODO B, DOPPLER E ELASTOGRAFIA DOS TECIDOS MATERNO-FETAIS DURANTE A ÚLTIMA SEMANA GESTACIONAL DE OVELHAS SANTA INÊS COM PARTO A TERMO E PREMATURO INDUZIDO	24
Resumo.....	24
Introdução.....	25
Conclusão.....	27

Referências.....	28
------------------	----

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Ultrassonografia Modo B, Doppler e Elastografia de tecidos materno fetais em ovelhas gestantes com parto natural e prematuro induzido: estudo da maturidade dos conceitos e momento ideal de parturição", protocolo nº 1053/17, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 02 de fevereiro de 2017.

Vigência do Projeto	02/02/2017 a 07/12/2019
Espécie / Linhagem	Ovina / Santa Inês
Nº de animais	30
Peso / Idade	40-60 kg / 2-3 anos.
Sexo	Fêmeas
Origem	Aprisco anexado ao Departamento de Reprodução Animal da FCAV- Unesp Câmpus de Jaboticabal (21º 15' 18" Sul e 48º 19' 19" Oeste).

Jaboticabal, 02 de fevereiro de 2016.


Profª Drª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

ULTRASSONOGRAFIA MODO B, DOPPLER E ELASTOGRAFIA DE TECIDOS MATERNO FETAIS EM OVELHAS GESTANTES COM PARTO NATURAL E PREMATURO INDUZIDO: ESTUDO DA MATURIDADE DOS CONCEPTOS E MOMENTO IDEAL DE PARTURIÇÃO

RESUMO – Objetivou-se avaliar e descrever as características ultrassonográficas (modo B, Doppler e elastográfica) de tecidos materno-fetais (pulmão, fígado, rins, placentônio e cérvix) em ovelhas gestantes de parto natural ou prematuro induzido; verificar diferenças de achados entre os tipos de parto e, correlacionar com os valores obtidos dos sinais específicos do parto e impedância do muco vaginal, visando prever a proximidade do processo de parturição. Trinta ovelhas Santa Inês adultas foram selecionadas e divididas em dois grupos: Parto Normal-*GPN* (n=15); e Parto Prematuro Induzido-*GPPI* (n=15). Os animais foram avaliados a cada 12 horas até o momento da parturição (última semana gestacional), as ovelhas pertencentes ao *GPN* a partir do 143º dia de gestação e as do *GPPI*, a partir do 135º dia de gestação (dia correspondente à indução do parto com betametasona e antiprogéstágeno aglepristona). Foram avaliadas as estruturas pulmonares, renais e hepática dos conceptos, placentônio e cérvix, obtendo-se as características ultrassonográficas convencional e Doppler (placentônio e artéria uterina), elastografia quantitativa (velocidade de cisalhamento – m/s), além dos batimentos cardíacos fetais, impedância do muco vaginal e, presença de sinais específicos e comportamentais do parto (edema vulvar, isolamento, ingurgitamento de úbere e temperatura vulvar). O nível de significância utilizado foi de 5% ($p < 0,05$) para todos os testes estatísticos realizados. A temperatura vulvar média foi maior ($p > 0,001$) no *GPN* do que no *GPPI*. As variáveis ultrassonográficas estudadas apresentaram variações significativas nas últimas 12 horas que precederam o parto no *GPPI*, sendo que algumas variáveis demonstraram capacidade de prever o momento do parto neste grupo: índice de resistência e velocidade diastólica final (VDF) da artéria uterina; e a velocidade de cisalhamento (SWV) do rim fetal demonstrou em ambos os grupos. Conclui-se que a redução da resistência vascular e aumento da VDF da artéria uterina em ovelhas com parto prematuro, bem como a diminuição da SWV do rim fetal em ovelhas com parto a termo e prematuro permitem prever a iminência do parto nas 12 horas subsequentes. Adicionalmente, os achados de imagem das estruturas materno fetais e a temperatura vulvar são diferentes em animais com parto prematuro e a termo.

Palavras-chave: maturação fetal, ovinos, predição do parto, prematuridade, ultrassom

ULTRASONOGRAPHY B MODE, DOPPLER AND ELASTOGRAPHY OF MATERNAL AND FETAL TISSUES IN PREGNANT EWES WITH NATURAL AND PREMATURE INDUCED PARTURITION: STUDY OF THE MATURITY OF THE CONCEPTS AND IDEAL TIMING OF LAMBING

ABSTRACT - The aim of this study was to evaluate and describe the ultrasonographic characteristics (B mode, Doppler and elastographic) of maternal-fetal tissues (lung, liver, kidneys, placentonium and cervix) in pregnant ewes with normal and induced pre-term parturition; to verify differences of findings between the types of lambing and to correlate with the values obtained from specific signs of lambing and impedance of vaginal mucus, aiming to predict the proximity of the parturition process. Thirty adult Santa Inês sheep were selected and divided into two groups: Parturition at term-*GPN* (n=15); and Induced pre-term parturition-*GPPI* (n=15). The animals were evaluated every 12 hours until the moment of parturition (last gestational week), the ewes belonging to the *GPN* from the 143rd day of gestation and those of the *GPPI* from the 135th day of gestation (day corresponding to the induction of lambing with betamethasone and antiprogesterin aglepristone). Pulmonary, renal and hepatic structures of the concepts, placentonium and cervix were evaluated, obtaining the conventional ultrasound and Doppler ultrasound characteristics (placentonium and uterine artery), quantitative elastography (shear velocity - m / s), in addition to fetal heart rate, impedance of vaginal mucus and presence of specific and behavioral signs of lambing (vulvar edema, isolation, udder engorgement and vulvar temperature). The significance level used was 5% ($p < 0.05$) for all statistical tests performed. Mean vulvar temperature was higher ($p > 0.001$) in *GPN* than in *GPPI*. The ultrasonographic variables studied showed significant variations in the last 12 hours prior to lambing in the *GPPI*, and some variables demonstrated the ability to predict the proximity of lambing in this group: resistance index and end diastolic velocity (VDF) of the uterine artery; and fetal kidney shear wave velocity (SWV) demonstrated in both groups. It was concluded that the reduction of vascular resistance and increase of uterine artery VDF in premature ewes, as well as the decrease of fetal kidney SWV in ewes at term and premature lambing allow to predict the imminence of delivery in the following 12 hours. Additionally, imaging findings of fetal maternal structures and vulvar temperature are different in animals with preterm and term parturition.

Keywords: fetal maturation, prediction of lambing, prematurity, sheep, ultrasound

CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais

1. Introdução

O termo maturidade fetal (lat *maturitate*) 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. O diagnóstico intrauterino da maturação fetal e avaliação do desenvolvimento das estruturas materno fetais tornam-se 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 materno-fetal (Canello et al., 2015).

O nascimento prematuro é fator relevante para a mortalidade e morbidade perinatal em seres humanos, sendo responsável por cerca de 75% de todos os óbitos neonatais e de complicações médicas agudas, como a síndrome da angústia respiratória, hemorragia intraventricular e enterocolite necrotizante (Salim et al., 2016). Tais fatos denotam grande importância de se avaliar a maturidade dos conceitos humanos e animais; e neste contexto, a espécie ovina tem sido utilizada como modelo experimental para estudos sobre a maturidade tecidual em conceitos e a utilização de terapias pré-natais (corticosteroides) e seus resultados neste processo, tanto para avaliação do desenvolvimento pulmonar e como de tecidos cerebrais e sistema cardiovascular (Regazzi, 2015).

O exame ultrassonográfico, além de seguro à fêmea e aos fetos, mostra-se eficaz e preciso na avaliação da gestação dos animais, permitindo confirmar a prenhez, acompanhar o desenvolvimento do conceito em todas as fases da gestação, estimar a idade gestacional, avaliar as condições do útero e fetos, além de possibilitar o diagnóstico de anormalidades gestacionais, como mau desenvolvimento do conceito, reabsorção e abortamento (Feliciano et al., 2008).

Atualmente em veterinária, especificamente em cadelas, tem-se buscado realizar a avaliação ultrassonográfica de estruturas materno fetais específicas durante todo processo gestacional, determinando as características do desenvolvimento e maturação destes tecidos, como por exemplo, na avaliação renal (Feliciano et al., 2014a) e hepática (Feliciano et al. 2015a). Demonstrando a relevância da ultrassonografia fetal, em medicina este método tem sido aplicado para avaliar a

maturidade pulmonar de indivíduos, por meio do estudo da ecotextura (Prakash et al., 2002), e para o diagnóstico de doenças pulmonares fetais (Moeglin et al., 2005). Em ovelhas prenhes, não há na literatura estudos específicos sobre o acompanhamento ultrassonográfico do desenvolvimento e maturidade de tecidos específicos dos fetos, como fígado, pulmões e rins dos conceptos, avaliados durante o terço final de gestação.

A ultrassonografia Doppler tem sido aplicada na avaliação gestacional dos animais, determinando as características hemodinâmicas materno-fetais e auxiliando no acompanhamento gestacional em ovelhas (Barbosa & Silva, 2012). Em humanos, o modo Doppler permite a avaliação da circulação materna (artérias uterinas), útero-placentária (artérias umbilicais) e fetal (artéria cerebral média). Essa tecnologia permite, de forma não invasiva, realizar o diagnóstico de casos de insuficiência placentária e avaliação das alterações hemodinâmicas fetais que ocorrem em resposta ao déficit de oxigênio para o conceito (Francisco & Zugaib, 2008).

A elastografia vem acrescentar na técnica diagnóstica ultrassonográfica permitindo verificar a elasticidade dos tecidos através de uma “palpação virtual”, que possibilita analisar estruturas mais profundas do corpo, de pequenas dimensões e de diferentes características de rigidez (Trindade, 2013). Estudos recentes concluem que a elastografia ARFI (*Acoustic Radiation Force Impulse*) pode ser realizada durante a última semana gestacional em cadelas e ovelhas para analisar o desenvolvimento perinatal normal dos tecidos materno-fetais, o que demonstra a importância desta técnica de imagem na avaliação do desenvolvimento e maturidade de conceptos de diferentes espécies (Da Silva et al., 2019; Simões et al., 2018).

Em veterinária, Quarello et al. (2016) demonstraram a aplicabilidade e viabilidade da realização do método elastográfico (Supersonic Shear Imaging) na avaliação gestacional de babuínos, determinando características da rigidez dos tecidos placentários e órgãos fetais como pulmão e cérebro (Quarello et al., 2015). De acordo com estes autores, o desenvolvimento de estudos elastográficos em animais, além de demonstrar a importância deste método na avaliação da gestação dos babuínos, fornece valores relevantes para serem aplicados em humanos, visto que ainda não é possível o uso desta técnica em mulheres gestantes.

Neste contexto, surge a necessidade de se desenvolver estudos sobre reprodutibilidade, confiabilidade e qualidade efetiva dos resultados das diferentes

técnicas ultrassonográficas para avaliação gestacional de animais de produção, sua utilização no acompanhamento do último terço de gestação de ovelhas, determinando padrões de normalidade, visando facilitar a sua implementação na prática obstétrica nas diversas espécies, além de poder auxiliar na predição de parto.

Por fim, espera-se que por meio das diferentes técnicas ultrassonográficas (modo B, Doppler e elastografia) das estruturas materno fetais de ovelhas gestantes, seja possível verificar o desenvolvimento e maturidade gestacional e determinar valores de referência destes métodos (resultados dopplerfluxométricos e quantitativos de rigidez das estruturas avaliadas). Sugere-se que estes resultados poderão ser aplicados na diferenciação de tecidos maduros e imaturos em fêmeas ovinas gestantes, permitindo prever a maturidade dos conceitos, determinar um momento ideal de parturição e auxiliar no diagnóstico de anormalidades materno fetais que prejudicam o desenvolvimento dos conceitos ovinos.

Buscando complementar as avaliações ultrassonográficas, foram realizadas a avaliação dos sinais específicos de parto, impedância do muco vaginal e, temperatura vulvar das ovelhas gestantes, com o intuito de relacionar seus achados com os obtidos pelos métodos de imagem, verificando as suas aplicabilidades diagnósticas e acurácia para predição do momento ideal de parto e maturidade gestacional.

2. Referências

Canello FG, Almeida VT, Kawanami AE, Ferreira GS, Ortolan MDDV, Oliveira MEF, Feliciano MAR, Vicente WRR (2015) Estudo da maturidade fetal canina em fase final de gestação: aplicabilidade diagnóstica. **Veterinaria e Zootecnia** 22:513-521.

Da Silva PDA, Uscategui RAR, Santos VJC, Taira AR, Mariano RSG, Rodrigues MGK, Simões APR, Maronezi MC, Avante ML, Vicente WRR, Feliciano MAR. Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography to assess maternal and foetal structures in pregnant ewes. **Reproduction in Domestic Animals**, v.54, p. 498-505, 2019.

Dudea SM, Giurgiu CR, Dumitriu D, Chiorean A, Ciurea A, Botar-JID C, Coman I (2011) Value of ultrasound elastography in the diagnosis and management of prostate carcinoma. **Medical Ultrasonography** 13: 45-53.

Feliciano MAR, Cardilli DJ, Nepomuceno AC, Crivelaro RM, Silva MAM, Coutinho LN, Oliveira MEF, Vicente WRR (2014a) Echobiometrics kidney and renal artery triplex doppler of canine fetuses. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 66:445-449.

Feliciano MAR, Maronezi MC, Pavan L, Castanheira TL, Simões APR, Carvalho CF, Canola JC, Vicente WRR (2014b) ARFI elastography as a complementary diagnostic

method for mammary neoplasia in female dogs - preliminary results. **Journal of Small Animal Practice** 55: 504-508.

Feliciano MAR, Vicente WRR, Leite CAL, Muzzi LAL (2008) Novas perspectivas no diagnóstico ultra-sonográfico gestacional em cadelas – revisão de literatura. **Clínica Veterinária** 73: 56-60.

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

Francisco RPV, Zugaib M (2008) Análise crítica da dopplervelocimetria para avaliação da vitalidade fetal. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, 30:163-166.

Gennisson JL, Deffieux T, Fink M, Tanter M (2013) Ultrasound elastography: Principles and techniques. **Diagnostic and Interventional Imaging** 94:487-495.

Moeglin D, Talmant C, Duyme M, Lopez AC (2005) Fetal lung volumetry using two and three dimensional ultrasound. **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, 25:119-127.

Peralta L, Mourier E, Richard C, Charpign G, Larcher T, Aït-Belkacem D, Balla NK, Brasselet S, Tanter M, Muller M, Chavatte-Palmer P (2015) 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** 10:1-21.

Prakash KNB, Ramakrishnan AG, Suresh S, Chow WP. Fetal lung maturity analysis using ultrasound image features (2002). **IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine** 6:38-45.

Quarello E, Lacoste R, Mancini J, Melot-Dusseau S, Gorincour G. Shear waves elastography of the placenta in pregnant baboon (2015) **Gynécologie Obstétrique & Fertilité** 43:200-204.

Quarello E, Lacoste R, Mancini J, Melot-Dusseau S, Gorincour G. Feasibility and reproducibility of ShearWave (TM) elastography of fetal baboon organs (2016) **Prenatal Diagnosis** 35:1112-1116.

Regazzi FM (2015) **Efeito da corticoterapia materna antenatal e pós-natal em cordeiros prematuros extremos**. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo.

Salim R, Suleiman A, Colodner, R, Nachum Z, Goldstein LH, Shalev E (2016) Measurement of betamethasone concentration in maternal serum treated for fetal lung maturity; Is it feasible? **Reproductive Biology and Endocrinology** 14:2-5.

Simões APR, Feliciano MAR, Maronezi MC, Uscategui RAR, Bartlewski PM, Almeida VT, Oh D, Silva PES, Da Silva LCG, Vicente WRR. Elastographic and echotextural characteristics of foetal lungs and liver during the final 5 days of intrauterine development in dogs. **Animal Reproduction Science**, v.197, p.170-176, 2018.

Simões APR, Feliciano MAR, Maronezi MC, Uscategui RAR, Bartlewski PM, Almeida VT, Oh D, Silva PES, Da Silva LCG, Vicente WRR. Elastographic and echotextural characteristics of foetal lungs and liver during the final 5 days of intrauterine development in dogs (2018). **Animal Reproduction Science**, 197:170-176.

3. Revisão de Literatura¹



Rev Bras Reprod Anim v.43, n.3, p.765-771, jul./set. 2019

Aspectos ecográficos e elastográficos utilizados como preditores de trabalho de parto em ovinos – Revisão de literatura

Ultrasound and elastographic aspects used as predictors of lambing in sheep - Literature review

Mariana Garcia Kako Rodriguez^{1,4}, Victor José Correia Santos¹, Priscila Del Aguila da Silva¹, Renata Sitta Gomes Mariano¹, Marjory Cristina Maronezi¹, Ana Paula Rodrigues Simões¹, Beatriz Gasser¹, Priscila Silva¹, Ricardo Andres Ramirez Uscategui², Marcus Antônio Rossi Feliciano³

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

²Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri, Minas Gerais, Brasil.

³Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

Resumo

O parto prematuro é fator relevante para a morbidade e mortalidade perinatal em humanos e a determinação da maturidade fetal é de extrema importância, principalmente em gestações de alto risco relacionadas à prematuridade. Em virtude dos estágios de desenvolvimento dos órgãos, em relação ao nascimento, serem semelhantes em ovinos e humanos, a espécie ovina tem sido utilizada como modelo experimental para estudos sobre a maturidade tecidual em conceitos, bem como para emprego de terapias pré-natais (corticosteróides) e suas respostas neste processo. Uma das técnicas que podem ser utilizadas para avaliação do desenvolvimento dos tecidos materno fetais ovinos é a ultrassonografia, método seguro e não invasivo que fornece informações importantes quanto a maturidade fetal e aspectos maternos que podem contribuir para a determinação do momento do parto e consequente redução da morbidade e mortalidade neonatal em ovinos. Deste modo, esta revisão objetiva descrever aspectos fisiológicos maternos e fetais das últimas semanas gestacionais até o momento do parto em ovinos, assim como mostrar as diferentes técnicas ultrassonográficas utilizadas para a avaliação destas características, afim de auxiliar na identificação de um parto prematuro e/ou gestações de alto risco.

Palavras-chave: maturação fetal, parturição, parturição prematura, ultrassom, ovelha.

Abstract

Premature birth is a relevant factor for perinatal morbidity and mortality in humans and the determination of fetal maturity is extremely important, especially in high-risk pregnancies related to prematurity. Because the stages of organ development in relation to birth are similar in sheep and humans, the ovine species has been used as an experimental model for studies on fetal tissue maturity, as well as for the use of prenatal therapies (corticosteroids) and its action during this process. One technique that can be used to evaluate the development of ovine maternal and fetal tissues is the ultrasound, which is a safe and noninvasive method that provides important information about the moment of delivery, aids the determination of fetal maturity, the diagnosis of possible premature birth and consequently contributes to the reduction of neonatal morbidity and mortality. This review aims to describe the physiological aspects of the last gestational weeks until delivery, as well as to show the different ultrasound techniques used to assess fetal maturity in order to assist the identification of premature delivery and/or high risk pregnancies.

Keywords: fetal maturation, parturition, preterm parturition, ultrasound, ewes.

¹ Este capítulo corresponde ao artigo de revisão publicado na Revista Brasileira de Reprodução Animal.

Introdução

O sucesso da parturição depende da maturação dos sistemas fetais para gerar suficiente suporte fisiológico, remodelamento extracelular tecidual da cérvix e útero, e da eficiência das contrações uterinas (McLaren et al., 1996). A disfunção dos mecanismos supracitados pode ocasionar um parto prematuro (Beck et al., 2010).

A incidência de parto prematuro em mulheres é de 6-12% de todos os partos e vem aumentando nos últimos 30 anos nos países desenvolvidos, devido ao aumento da terapia reprodutiva assistida, nascimentos múltiplos e fatores maternos (Williams & Pugh, 2018). Beck et al. (2010) estimaram que 9,6% de todos os nascimentos no ano de 2005, a nível mundial, foram oriundos de parturição prematura. A compreensão dos mecanismos que regulam o parto deve permitir o desenvolvimento de protocolos para prevenção e predição da parturição prematura em mulheres e animais, assim como manipular o momento do parto, de modo a evitar ou reduzir a morbidade e mortalidade perinatal (Lye, 1996).

A ovelha gestante tem sido utilizada como um excelente modelo experimental para áreas médicas, no estudo dos efeitos de desenvolvimento do parto, uma vez que os estágios de desenvolvimento e maturação dos órgãos relacionados à parturição são semelhantes em ovelhas e mulheres (De Matteo et al., 2010).

A viabilidade fetal é consequência da maturação de diversos órgãos e, desta forma, a avaliação da maturidade fetal é essencial para estimar a capacidade do recém-nascido a adaptar-se ao ambiente extrauterino (Liggins et al., 1979). Estudos em mulheres e ovelhas gestantes demonstram que a ultrassonografia auxilia na determinação da maturidade fetal de diversos órgãos como placenta, pulmão, fígado e cérvix (Salamanca et al., 2002; Peralta et al., 2015; Da Silva et al., 2018), indicando esta técnica como promissora para avaliação da maturação fetal, o que pode contribuir para a redução da morbidade e mortalidade neonatal, fornecer informações importantes sobre o momento do parto e auxiliar no diagnóstico de possível parto prematuro (Giannico et al., 2015).

O objetivo desta revisão é descrever aspectos fisiológicos maternos e fetais das últimas semanas gestacionais até o momento do parto, bem como mostrar a utilização das diferentes técnicas ultrassonográficas para avaliação destas características, afim de contribuir na identificação de um parto prematuro e/ou gestações de alto risco.

Últimas semanas gestacionais em ovinos

Durante o final do último terço da gestação, o hipotálamo materno estimula, por meio do hormônio liberador de corticotrofina e arginina vasopresina, a liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise fetal. A elevação do ACTH promove o aumento da secreção de cortisol pelo córtex da glândula adrenal do feto (McLaren et al., 1996).

A elevação nos níveis de cortisol no pré-parto leva ao aumento de glicogênio acumulado no fígado. O cortisol estimula a síntese de glicogênio no fígado nos últimos 15 dias gestacionais. Além disso, a reserva de glicogênio contribui para manutenção da temperatura corporal fetal durante os primeiros dias após o nascimento (McLaren et al., 1996).

Entre outras funções do cortisol fetal estão o desenvolvimento, diferenciação e maturação de diversos órgãos. Especificamente nos pulmões, estimula a produção de surfactantes pelas células pulmonares tipo II do feto (pneumócitos). A produção de surfactantes é aumentada pela alteração na síntese de progesterona para estrógenos estimulada pelo aumento da produção de cortisol fetal, que acontece de 20-25 dias pré-parto, ocorrendo um pico 2-3 antes do parto em ovinos (Grenache & Gronowski, 2006; Rawlings & Bartlewski, 2007).

O complexo de lipoproteínas, denominado surfactante pulmonar, é responsável pelo declínio da tensão superficial da interface ar-líquido alveolar, prevenindo o colapso pulmonar na expiração, ou seja, promove a diminuição da tensão superficial alveolar por meio da criação de uma monocamada rica em lipídios, que separa o gás alveolar das superfícies líquidas das células epiteliais, estabilizando os alvéolos e possibilitando que os volumes pulmonares sejam preservados na expiração, consequentemente prevenindo atelectasias no recém-nascido (Grenache & Gronowski, 2006).

No período fetal, o lúmen do sistema respiratório é preenchido por fluidos, produzidos pelas células epiteliais das vias aéreas distais, que são determinantes no processo de crescimento e para transição à vida extra-uterina. Especificamente em ovinos, são produzidos cerca de 5 mL/kg/h próximo ao parto. Durante o parto até o nascimento, os canais de sódio epiteliais auxiliam o fluxo de sódio transepitelial, atraindo o líquido do lúmen pulmonar para o interstício, facilitando a absorção dos fluidos. A ventilação e oxigenação proporcionam a limpeza do líquido pulmonar por meio das células epiteliais em direção ao interstício. Após o nascimento, os fluidos nas vias e espaços aéreos são rapidamente eliminados para permitir o início da respiração (Houeijeh et al., 2017).

Entre as mudanças que ocorrem com o avanço da gestação, a angiogênese placentária mostra-se essencial no que se refere ao desenvolvimento e crescimento fetal. A densidade vascular dos tecidos placentários aumenta

gradualmente ao longo da gestação. Durante o último terço da gestação há um incremento no crescimento vascular dos cotilédones placentários e crescimento fetal (Bairagi et al., 2016).

Outras alterações ocorrem também na cérvix, que adquire fundamental importância no controle do processo da parturição. Há uma preparação cervical para o parto pelo remodelamento da sua matriz extracelular, de modo que o tecido se torna distensível e macio para a passagem do conceito no canal durante a parturição. A partir da metade da gestação inicia-se, gradual e progressivamente, o maleabilidade e encurtamento cervical por meio da desordenação da configuração das fibras colágenas curtas, as quais reduzem a rigidez tecidual sem comprometer a resistência à tração. No entanto, essas mudanças estruturais podem afetar o tempo do parto (Mesiano et al., 2014).

No final da gestação ocorre o amadurecimento da cérvix, envolvendo modificações na composição e estrutura da matriz extracelular cervical, tornando-a macia, distensível e fina. Este processo promove a perda de integridade estrutural e resistência à tração pela alteração biomecânica causada principalmente pela redução na concentração e organização do colágeno na matriz extracelular (Mesiano et al., 2014).

A progesterona promove a competência cervical e previne o amadurecimento. Estudos demonstram que o tratamento com antiprogéstágenos (antagonista de progesterona) em qualquer estágio da gestação, promove o amadurecimento cervical (Mesiano et al., 2014).

Parturição a termo

A parturição é produto da maturidade progressiva de diversas vias que resultam na coordenação e sincronização da maturação fetal, atividade contrátil do miométrio e da preparação do canal do parto (McLaren et al., 1996). O desencadeamento do parto ocorre pela ativação do eixo hipófise-adrenal do feto e depende da maturação funcional do córtex da adrenal do mesmo. A glândula pituitária fetal secreta ACTH, o qual estimula as glândulas adrenais do feto a secretarem corticosteróides, que amplia a síntese de estrógeno placentário e promove a síntese e liberação de PGF2 α pela placenta e endométrio. Por sua vez, esta provoca a luteólise e redução da concentração de progesterona materna, impulsionando a secreção de ocitocina e atividade do miométrio a iniciar a parição (Mobini et al., 2005). Esse processo de mudança da produção de progesterona para produção de estrógenos, inicia-se em menos de cinco dias antes do parto nas ovelhas (Swenson & Reece, 1999).

No segundo estágio do parto há distensão vaginal causada pela liberação de ocitocina a partir da hipófise posterior. O principal papel da ocitocina liberada no final da gestação é aumentar a produção de PGF2 α pelo endométrio e placenta, que estimula contrações uterinas fortes e sincronizadas. A prostaglandina E2, produzida pelo trofoblasto fetal, ativa o eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal, além de ser o principal contribuinte para dilatação cervical (McLaren et al., 1996). Estudos indicam que a relaxina produzida pela placenta regula a maleabilidade cervical (Mesiano et al., 2014).

Durante o trabalho de parto ocorre dilatação cervical que envolve o adelgaçamento de sua parede, a resistência à força de tração é cessada pelas contrações e pressão da parte fetal para abrir o canal e permitir a passagem do conceito. A dilatação está associada à degradação do colágeno pela elevação da expressão e atividade tecidual das matrizes metaloproteinases (MMPs) (principalmente collagenase: enzima que degrada o colágeno), além de envolver a infiltração de células inflamatórias, importante fonte de collagenase. A dilatação promove o aumento da síntese de hialuronato em resposta à queda a progesterona, que suaviza a matriz extracelular cervical e aumenta a inflamação ao nível dos tecidos (Mesiano et al., 2014).

Parto Prematuro

O nascimento prematuro é uma condição associada à mortalidade e morbidade perinatal em seres humanos, responsável por cerca de 75% de todos os óbitos neonatais e de complicações médicas agudas, como a síndrome da angústia respiratória, hemorragia intraventricular e enterocolite necrotizante (Salim et al., 2016).

Recém-nascidos prematuros quase sempre apresentam dificuldade em respirar, dispnéia inspiratória e expiratória, devido ao incompleto desenvolvimento da árvore brônquica, depuração do líquido pulmonar prejudicada e deficiência na produção de surfactantes, associados à imaturidade de outros órgãos (Zoller et al., 2015). Consequentemente, apresentam fraqueza progressiva e desenvolvem a síndrome da angústia respiratória, levando a atelectasia pulmonar e diminuição da capacidade pulmonar de trocas gasosas, gerando acidose e hipóxia (Grenache & Gronowski, 2006; Roberts & Dalziel, 2006).

O acúmulo de líquido no pulmão, bem como a limitanda capacidade residual funcional, estão relacionadas as lesões no pulmão imaturo e deficiência na síntese e secreção de surfactante (Houejeh et al., 2017). Desta forma, é de grande importância que o grau de maturidade pulmonar fetal seja avaliado, considerando que qualquer defeito na formação de componentes pulmonares ou em nascimentos prematuros, pode acarretar problemas respiratórios ao neonato, como a síndrome da angústia respiratória (Joshi & Kotecha, 2007).

O maleabilidade anormal da cérvix pode afetar o momento do parto, embora não faça parte por si só do processo completo de parturição. Além de influenciar a competência mecânica e biológica cervical, afeta a suscetibilidade à infecção uterina (Mesiano et al., 2014). Estudos em mulheres gestantes por meio da ultrassonografia demonstraram que o encurtamento cervical é um fator de risco para o parto prematuro, ou seja, quando possuem comprimentos cervicais curtos tem risco aumentado de parto prematuro espontâneo (Andrews et al., 2000).

A corticoidoterapia tem sido utilizada para indução da parturição em gestantes com risco de parto prematuro, no intuito de estimular a maturação fetal (Zoller et al., 2015). Estudo de Dawes & Parry (1965) demonstrou que quando não é utilizado indutor de parto, a taxa de sobrevivência de cordeiros nascidos prematuros é baixa, em torno de 19%. Já quando utilizam corticóide exógeno para induzir o parto, a taxa de sobrevivência é relativamente alta, com Zoller et al. (2015) reportando taxas de sobrevivência dos cordeiros entre 75 e 88,8% nas ovelhas gestantes tratadas com dexametasona.

Ultrassonografia na última semana gestacional

Estudos sobre avaliação da maturidade fetal utilizando a ultrassonografia no último trimestre da gestação têm sido realizados baseando-se nas características qualitativas e quantitativas de diversos órgãos, principalmente da placenta e pulmão (Simões et al., 2018). No entanto, até o momento nenhum parâmetro ultrassonográfico é preciso para determinação da maturidade fetal.

Modo B

A ultrassonografia modo B é uma ferramenta diagnóstica não invasiva, que permite o acompanhamento do desenvolvimento fetal e detecção precoce de alterações, além de auxiliar na garantia do nascimento de animais saudáveis (Fthenakisa, 2012). Este método possibilita estimar a idade gestacional e acompanhar o desenvolvimento do conceito em todas as fases da gestação pela detecção de membros, calcificações e vísceras como os rins, fígado, estômago, coração, intestino e vesícula urinária (Santos et al., 2018).

Petrucha et al. (1982) e Ragazzino et al. (1983) avaliaram as características ultrassonográficas da placenta de mulheres nas últimas semanas gestacionais e verificaram que quando a placenta é classificada como madura (grau III: entalhes até a camada basal, compartimentos com áreas livres de ecogenicidade e camada basal com áreas hiperecoicas) se correlaciona com a maturidade pulmonar fetal, podendo ser indicativo de maturação do feto e ausência de angústia respiratória neonatal. Em ovelhas, o placentônio se torna hipoeicoico em relação aos tecidos adjacentes a partir da 18ª semana gestacional, o que pode estar correlacionado com o aumento do volume sanguíneo nessas estruturas (Da Silva et al., 2018).

Sipriani et al. (2009) demonstraram que a produção de surfactantes ocorre na fase sacular do desenvolvimento pulmonar e inicia-se em torno dos 57 a 60 dias de gestação em cadelas. Salamanca et al. (2002) avaliaram fetos de mulheres gestantes pela ultrassonografia e observaram que o pulmão fetal se encontra maduro quando a ecogenicidade pulmonar é maior que a hepática. Corroborando com Simões et al. (2018), que observaram um padrão pulmonar hiperecótico em relação ao fígado, entretanto não encontraram diferenças entre a ecotextura pulmonar e hepáticas fetais durante os últimos 5 dias gestacionais em cadelas (fase sacular pulmonar). Em ovinos, Da Silva et al. (2018) avaliaram as características ultrassonográficas dos órgãos fetais em desenvolvimento e observaram que durante a fase canalicular e sacular (da 14ª semana de gestação até a parturição) o pulmão se manteve homogêneo e isocóico em relação ao fígado.

A monitorização ultrassonográfica da cérvix durante a gestação demonstrou que a maleabilidade anormal pode gerar o encurtamento ou deformação excessiva do canal cervical, causando rompimento precoce da barreira cervical, o qual permite a invasão microbiana oportunista da vagina até a cavidade amniótica, desencadeando a cascata do parto e consequentemente o nascimento prematuro. Ou seja, a detecção desta maleabilidade anormal da cérvix através da ultrassonografia pode ser um forte preditor de parto prematuro em mulheres e ovelhas (Peralta et al., 2015).

Doppler

O modo Doppler permite a avaliação de fetos com alto risco de morte intrauterina verificando a circulação materna pelas artérias uterinas, útero-placentária pelas artérias umbilicais e fetal pela artéria cerebral média (Francisco & Zugaib, 2008). O fluxo sanguíneo da artéria umbilical e uterina é um dos principais fatores que afetam o transporte de oxigênio para o feto. Durante a gestação o fluxo sanguíneo uterino e placentário aumenta, para suprir as necessidades metabólicas do feto em crescimento. Desta forma, a angiogênese placentária é essencial para o desenvolvimento fetal (Bairagi et al., 2016).

As velocidades do fluxo sanguíneo da artéria uterina mensuradas por meio do método Doppler espectral refletem a extensão da perfusão sanguínea uteroplacentária em ovelhas gestantes. O índice resistência e pulsatilidade é inversamente proporcional a perfusão tecidual (Acharya et al., 2007). Durante a gestação ocorre um aumento progressivo do fluxo sanguíneo uterino e placentário, fundamental para suprir as necessidades

metabólicas do feto em crescimento, refletido pela diminuição da resistência vascular da artéria uterina e umbilical indicando o efeito vasodilatador da progesterona e desenvolvimento fetal adequado (Veiga et al., 2018).

Em estudos recentes, na penúltima semana gestacional de ovelhas observou-se queda nos índices de resistência e pulsatilidade das artérias uterinas até momento do parto (Elmetwally et al., 2016; Beltrame et al., 2017). Giannico et al. (2015), verificaram declínio no índice de resistência da artéria umbilical de cadelas gestantes 72 horas antes do parto a termo. Em cabras, estudo demonstra que há um declínio no índice de resistência a partir dos 130 dias de gestação (Seri et al., 2010).

Elastografia

A elastografia foi desenvolvida no início dos anos 1990 como técnica associada à ultrassonografia baseada em princípios físicos associados à força de compressão, tração, tensão e elasticidade, capaz de fornecer informações importantes sobre as propriedades acústicas e os atributos mecânicos de uma área de interesse em relação ao tecido adjacente. Esta técnica é considerada um método diagnóstico promissor que permite avaliar a elasticidade dos tecidos através de uma “palpação virtual”, possibilitando analisar estruturas mais profundas do corpo, de pequenas dimensões e de diferentes características de rigidez. Assim, obtém-se informação adicional e clinicamente relevante na avaliação de diferentes tecidos (Gennisson et al., 2013).

A elastografia *Acoustic Radiation Force Impulse* (ARFI) mostrou-se como uma técnica aplicável e aparentemente segura para avaliação dos tecidos materno e fetal no modelo ovino. Esta técnica permite uma abordagem qualitativa e caracterização elastográfica quantitativa de tecidos, possibilitando a detecção de alterações da rigidez pulmonar e hepática relacionadas ao desenvolvimento fetal, sendo que a velocidade de cisalhamento do pulmão fetal diminuiu progressivamente da semana gestacional 16 à 21, em contrapartida a velocidade de cisalhamento do fígado aumenta da semana gestacional 14 à 21 (Da Silva et al., 2019).

Wu et al. (2016) estudaram a rigidez placentária de mulheres gestantes pela elastografia ARFI e observaram uma pequena diferença entre a velocidade de cisalhamento no segundo e terceiro trimestre de gestação (0.978 ± 0.255 m/s vs. 0.987 ± 0.266 m/s, $p=0.711$), indicando que há uma tendência da placenta madura a ser mais rígida.

Alguns estudos avaliaram a rigidez da placenta em mulheres no segundo ou terceiro trimestre de gestação com risco de parto prematuro, diagnosticadas com pré-eclampsia, e mostraram que a rigidez da placenta é maior em pacientes com esta patologia quando comparado com gestação normal (Karaman et al., 2016).

Wozniak et al. (2014) demonstraram que a avaliação elastográfica cervical durante a 18-22 semanas gestacionais pode prever o parto prematuro em mulheres de baixo risco gestacional e assintomáticas, por meio da detecção de menor rigidez da cervix. Em estudo inicial, 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 quatro a oito horas após aplicação do fármaco, sugerindo que a elastografia pode complementar o diagnóstico de nascimentos prematuros em ovinos.

Considerações finais

A avaliação dos tecidos materno fetais no período pré-parto por meio das diferentes técnicas ultrassonográficas pode fornecer informações de grande valia sobre os processos envolvidos na maturação dos tecidos materno fetais na determinação do momento do parto e identificação de gestações com risco de parto prematuro, permitindo tomar medidas de antemão para aumentar a probabilidade de sobrevivência do recém-nascido.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil (CAPES) - Finance Code 001 por concessão de bolsa de estudo, ao Conselho Nacional para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio produtividade (número do processo: 309199/2017-4) e à Fundação de Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio na forma de projeto temático (número do processo: 2017/14957-6).

Referências

Acharya G, Sitras V, Erkinaro T, Mañ Kikallio K, Kavasmaa T, Pañ Kkila M, Huhta JC, Rañ Sañ Nen, J. Experimental validation of uterine artery volume blood flow measurement by Doppler ultrasonography in pregnant sheep. *Ultrasound Obstet Gynecol*, v.29, p.401–406, 2007.

- Andrews WW, Copper RL, Hauth JC, Goldenberg RL, Neely C, DuBard M.** Second-trimester cervical ultrasound: associations with increased risk for recurrent early, spontaneous delivery. *Obstet Gynecol*, v.95, p.222–26, 2000.
- Bairagi S, Quinn KE, Crane AR, Ashley RL, Borowicz P, Caton, JS, Redden RR, Grazul-Bliska AT, Reynolds LP.** Maternal environment and placental vascularization in small ruminants. *Theriogenology*, v.86, p.288–305, 2016.
- Beck S, Wojdyla D, Say L, Betran AP, Merialdi M, Requejo JH, Rubens C, Menon R, Van Look PF.** The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ*, v.88, p.31-8, 2010.
- Beltrame RT, Covre C, Littig LB, Martins AB, Quirino CR, Bartholazzi Junior A, Costa RLD.** Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in ewes during pregnancy. *Theriogenology*, v.91, p.55-61, 2017.
- Da Silva PDA, Uscategui RAR, Santos VJC, Taira AR, Mariano RSG, Rodrigues MGK, Simões APR, Maronezi MC, Avante ML, Vicente WRR, Feliciano MAR.** Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography to assess maternal and foetal structures in pregnant ewes. *Reprod Dom Anim*, v.54, p. 498-505, 2019.
- Dawes GS, Parry HB.** Premature delivery and survival in lambs. *Nature*, v.207, p.330, 1965.
- De Matteo R, Blash N, Tech CA, Stokes V, Davis P, Harding R.** Induced Preterm Birth in Sheep: A Suitable Model for Studying the Developmental Effects of Moderately Preterm Birth. *Reprod Sci*, v.17, p. 724-733, 2010.
- Elmetwally M, Rohn K, Meinecke-Tillmann S.** Noninvasive color Doppler sonography of uterine blood flow throughout pregnancy in sheep and goats. *Theriogenology*, v.85, p.1070-1079, 2016.
- Francisco RPV, Zugaib M.** Análise crítica da dopplervelocimetria para avaliação da vitalidade fetal. In: *Rev Bras Ginecol Obstet*, v.30, n.4, p.163-166, 2008.
- Fthenakisa GC, Arsenosb G, Brozosb C, Fragkoua IA, Giadinisb ND, Giannenas I, Mavrogiannia VS, Papadopoulosb E, Valasia I.** Health management of ewes during pregnancy. *Anim Reprod Sci*, v.130, p.198–212, 2012.
- Gennisson JL, Deffieux T, Fink M, Tanter M.** Ultrasound elastography: Principles and techniques. *Diagn Interv Imaging*, v.94, p.487-495, 2013.
- Giannico AT, Gil EMU, Garcia DAA, Froes TR.** The use of Doppler evaluation of the canine umbilical artery in prediction of delivery time and fetal distress. *Anim Reprod Sci*, v.154, p.105–112, 2015.
- Grenache DG, Gronowski AM.** Fetal lung maturity. *Clin Biochem*, v.39, p.1–10, 2006.
- Houeijeh A, Tourneux P, Mur S, Aubry E, Viard R, Sharma D, Storme L.** Lung liquid clearance in preterm lambs assessed by magnetic resonance imaging. *Pediatr Res*, v.82, p.114–121, 2017.
- Joshi S, Kotecha S.** Lung growth and development. *Early Hum Dev*, v.83, p.789–794, 2007.
- Karaman E, Arslan H, Çetin O, Şahin HG, Bora A, Yavuz A, Elasan S, Akbudak İ.** Comparison of placental elasticity in normal and pre-eclamptic pregnant women by acoustic radiation force impulse elastosonography. *J Obstet Gynaecol Res*, v.42, p.1464–1470, 2016.
- Liggins GC, Kitterman JA, Forster CS.** Fetal Maturation Related to Parturition. *Anim Reprod Sci*, vol. 2, p.93-207, 1979.
- Lye SJ.** Initiation of parturition. *Anim Reprod Sci*, vol.42, p.495-503, 1996.
- McLaren WJ, Young IR, Rice GE.** Late Pregnancy and Parturition in the sheep. *Advances in Organ Biology*, v.1, p.1-29, 1996.
- Mesiano S, DeFranco E, Muglia LJ.** In: Knobil and Neill's. Parturition. Physiology of Reproduction (Fourth Edition). 2014.
- Mobini S, Heath AM, Pugh DG.** In: Pugh DG. Teriogenologia de Ovinos e Caprinos. Clínica de Ovinos e Caprinos. São Paulo:Editora Roca, 2005.
- 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 model. *PLoS ONE*, v.10, n.8, p.1-21, 2015.
- Petrucha RA, Golde SH, Platt LD.** Real-time ultrasound of the placenta in assessment of fetal pulmonary maturity. *Am J Obstet Gynecol*, v.142, p.463–467, 1982.
- Ragozzino MW, Hill LM, Breckle R, Ellefson RD, Smith RC.** The relationship of placental grade by ultrasound to markers of fetal lung maturity. *Radiology*, v. 148, p. 805–807, 1983.
- Rawlings NC, Bartlewski PM.** In: Current Therapy in Large Animal Theriogenology. Saunders Elsevier, 2007, p.642-649.
- Roberts D, Dalziel S.** Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev*, v.31, 2006.
- Salamanca A, Carrillo A, Palomino M.** Predicción de la madurez fetal mediante la caracterización ultrasónica del pulmón. *Progresos de Obstetricia y Ginecología*, v.45, p.96–103, 2002.

- Salim R, Suleiman A, Colodner R, Nachum Z, Goldstein LH, Shalev E.** Measurement of betamethasone concentration in maternal serum treated for fetal lung maturity; Is it feasible? *Reprod Biol Endocrin*, v.14, p.2-5, 2016.
- Santos VJC, Rodriguez MGK, da Silva PA, Mariano RSG, Taira AR, Almeida VT, Uscategui RAR, Nociti RP, Teixeira PPM, Feliciano MAR, Vicente WRR.** B-mode ultrasonography and ecobiometric parameters for assessment of embryonic and fetal development in sheep. *Anim Reprod Sci*, v.197, p.193-202, 2018.
- Seri G, Gökdal Ö, Tarımcılar T, Atay O.** Umbilical artery doppler sonography in Saanen goat fetuses during singleton and multiple pregnancies. *Theriogenology*, v.74, p.1082-1087, 2010.
- Simões APR, Feliciano MAR, Maronezi MC, Uscategui RAR, Bartlewski PM, Almeida VT, Oh D, Silva PES, Da Silva LCG, Vicente WRR.** Elastographic and echotextural characteristics of foetal lungs and liver during the final 5 days of intrauterine development in dogs. *Anim Reprod Sci*, v.197, p.170-176, 2018.
- Sipriani TM, Grandi F, Silva LCG, Maiorka PC, Vannucchi CI.** Pulmonary Maturation in Canine Foetuses From Early Pregnancy to Parturition. *Reprod Dom Anim*, v.44, p.137–140, 2009.
- Swenson MJ, Reece WO.** Fisiología de los animals domésticos de Duckes. Capítulo 36: Stabenfeldt, G.H; Edqvist, L.E. Processos de la reproducción de la hembra. Segunda edição, México, 1999.
- Veiga GAL, Angrimani DSR, Silva LCG, Regazzi FM, Lúcio CF, Vannucchi CI.** Hemodynamics of the uterine and umbilical arteries during the perinatal period in ewes. *Anim Reprod Sci*, v.198, p.210–219, 2018.
- Williams J.E, Pugh, Y.** The Late Preterm. *Crit Care Nurs Clin North Am*, 2018.
- Wozniak S, Czuczwar P, Szkodziak P, Milart P, Wozniakowska E, Paszkowski T.** Elastography in predicting preterm delivery in asymptomatic, low-risk women: a prospective observational study. *BMC Pregnancy and Childbirth*, v. 14,p.238, 2014.
- Zoller DK, Vassiliadis PM, Voigta K, Sauter-Louisa C, Zerbea H.** Two treatment protocols for induction of preterm parturition in ewes—Evaluation of the effects on lung maturation and lamb survival. *Small Ruminant Res*, v.124, p.112–119, 2015.

CAPÍTULO 2 - Estudo de preditores para parto normal e prematuro em ovelhas Santa Inês

Jaboticabal, Brazil

Estudo de preditores para parto normal e prematuro em ovelhas Santa Inês

“Preditores de parto em ovelhas”

Mariana Garcia Kako Rodriguez^{1*}, Ricardo Andres Ramirez Uscategui², Victor José Correia Santos¹, Renata Sitta Gomes Mariano¹, Priscila Del Aguila da Silva¹, Marjury Cristina Maronezi¹, Vivian Tavares de Almeida¹, Beatriz Gasser¹, Priscila Silva¹, Pawel Bartlewski⁴, Luciana Cristina Padilha-Nakaghi¹, Marcus Antônio Rossi Feliciano³

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Univ. Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, São Paulo, , Brasil.

²Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri, Minas Gerais, Brasil.

³Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁴Biomedical Sciences, University of Guelph, Guelph, ON, Canada

* Corresponding author: mariana_kako@hotmail.com

Resumo: Objetivou-se avaliar sinais específicos de proximidade parto, em ovelhas como preditores de parto normal ou prematuro induzido. Trinta ovelhas Santa Inês gestantes foram selecionadas e divididas em dois grupos: Parto Normal-GPN (n=15); e Parto Prematuro Induzido-GPPI (n=15). Avaliou-se a presença de sinais obstétricos e comportamental como edema vulvar, isolamento, ingurgitamento de úbere e temperatura vulvar, assim como a impedância do muco vaginal, a cada 12 horas a partir do 135º dia

(dia correspondente à indução farmacológica do parto) nas do *GPPI* e, a partir do 143º dia nas ovelhas do *GPN*. Estas variáveis foram comparadas entre os grupos pelos testes exato de Fisher ou T-Student e determinada a previsibilidade destas variáveis para parto pelas curvas ROC ($p < 0,05$). A ingurgitação do úbere esteve presente em 100% dos animais nas 48 horas antes do parto ($p = 1,0$); O edema de vulva aumentou gradativamente aparecendo em 53% dos animais em ambos os grupos nas últimas 48 horas, 75% nas 24 horas ($p = 0,04$) e 100% nas últimas 12 horas ($p = 0,02$). A porcentagem de animais que se isola antes do parto aumenta gradativamente das 48 a 38 horas antes do parto de 7% para 32% em ambos os grupos, sem estas porcentagens serem significativas ($p = 0,053$). Já a temperatura vulvar média foi maior ($p > 0,001$) no *GPN* do que no *GPPI*, ocorrendo queda na temperatura 12 horas antes do parto no *GPN*, e elevação no *GPPI* ($p = 0,041$). Não houve diferença na impedância do muco vaginal entre as horas que precedem ao parto ($p = 0,786$) nem entre os grupos ($p = 0,440$). Conclui-se que a presença de edema e alteração na temperatura vulvar são capazes de predizer a proximidade do parto nas 12 horas subsequentes à avaliação. Além disso, a temperatura vulvar foi diferente entre os grupos nas últimas 12 horas que antecedem ao parto.

Palavras-chave: ovinos, predição do parto, sinais prodrômicos, resistência elétrica do muco vaginal.

Abstract: The aim of this study was to evaluate obstetric signs of proximity of lambing in ewes as predictors of normal or induced premature parturition. Thirty pregnant Santa Inês ewes were selected and divided into two groups: PT- parturition at term ($n = 15$); and IPP- induced preterm parturition ($n = 15$). Obstetric and behavioral signs such as vulvar edema, isolation seeking, udder engorgement, and vulvar temperature were evaluated, as well as vaginal mucus impedance every 12 hours from the 135th day (pharmacological induction

of lambing day) on IPP and from day 143rd PT ewes. These variables were compared between groups by Fisher's exact test or Student's T-test and the predictability of these variables for lambing was determined by ROC curves ($p < 0.05$). Udder engorgement was present in 100% of the animals within 48 hours before lambing ($p=1.0$); Vulvar edema increased gradually, appearing in 53% of the animals in both groups in the last 48 hours, 75% in the 24 hours ($p=0.04$) and 100% in the last 12 hours ($p=0.02$). The percentage of animals that were isolated before parturition increased gradually from 48 to 38 hours before lambing from 7% to 32% in both groups, but these percentages did not present significant variations ($p=0.05$). The mean vulvar temperature was higher ($p > 0.001$) in PT than in IPP, a decrease in vulvar temperature was observed 12 hours before lambing in PT and an increase in IPP ($p=0.04$). There was no difference in vaginal mucus impedance between the hours before lambing ($p=0.78$) or between the groups ($p=0.4$). It is concluded that the presence of edema and alteration in vulvar temperature are able to predict the proximity of lambing within 12 subsequent hours of assessment. In addition, vulvar temperature was different between groups in the last 12 hours prior to delivery.

Keywords: sheep, prediction of lambing, prodromal signs, electrical resistance of vaginal mucus.

INTRODUÇÃO

O parto é uma etapa crucial na produção de pequenos ruminantes (Sakatani et al., 2018), visto que a prevalência de distocia nessas espécies é relativamente alta e, a taxa mundial de mortalidade neonatal varia entre 10 e 30 %, sendo que em rebanhos ovinos bem manejados a mortalidade neonatal não ultrapassa 10% e, em alguns é inferior a 5% (Radositits et al., 2006; Dwyer, 2007), o que indica a necessidade de preditores precisos do

parto na tentativa de reduzir a taxa de mortalidade neonatal e promover assistência obstétrica adequada, em tempo hábil (Burfeind et al. 2011; Sakatani et al., 2018).

A manipulação do parto através da indução do mesmo, pode ser uma técnica clínica e de manejo útil, considerada por questões maternas em casos de toxemia da prenhez no intuito de prevenir a mortalidade, fetais quando a dismaturidade parece ser uma ameaça a sobrevivência (parto prematuro), ou de manejo como ferramenta de gestão para facilitar o processamento de lotes de ovelhas sincronizadas em escala comercial (Ingoldby & Jackson, 2001; House & Vaala, 2006).

Quando o momento do parto se aproxima, o úbere da fêmea ingurgita rapidamente, os ligamentos pélvicos relaxam e a vulva aumenta (2 a 3 semanas antes do parto) expondo pequenas quantidades de secreção mucosa incolor aproximadamente 2 semanas antes do parto, no momentos antes do parto ou no dia do parto observou-se separação do rebanho (Rawlings & Bartlewski, 1997; Mobini, 2004). Desta forma, distensão de úbere, edema vulvar, isolamento e declínio da temperatura corpórea são sinais obstétricos e comportamental que indicam a proximidade do parto e podem ser usados como referência, porém são muito variáveis e não são capazes de predizer o momento do parto com exatidão (Ewbank, 1963; Winfield & Makin, 1975; Birgel et al., 1994; Lammoglia et al., 1997; Jainudeen & Hafez, 2004).

Por meio da mensuração da impedância bioelétrica do muco vaginal é possível detectar alterações na resistência deste muco e indicar de forma acurada o estro, a gestação e, determinar o momento ideal para acasalamento e/ou inseminação (Tasal et al., 2005; Theodosiadou & Tsiligianni, 2015). Estudos demonstram correlação significativa entre a resistência elétrica do muco vaginal, concentração sérica de estradiol e progesterona

durante o ciclo estral e a gestação em ovinos (Bartlewski et al., 1999; Tasal et al., 2005; Theodosiadou & Tsiligianni, 2015).

Para espécie ovina, não existe um parâmetro preciso indicativo de parto como ocorre em éguas pelas características da secreção da glândula mamária (Canisso et al., 2013), não obstante, não há descrição em literatura de informações sobre a relação entre as variações de temperatura vulvar e impedância do muco vaginal com o parto de ovelhas.

Neste contexto, hipotetizou-se que a avaliação da impedância do muco vaginal, temperatura vulvar e dos sinais específicos de parto (presença de edema de vulva, ingurgitamento de úbere e isolamento) seria possível determinar o início do processo de parturição; além de serem diferentes em animais de parto natural e parto prematuro induzido. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar e comparar estas variáveis clínicas durante a última semana gestacional em ovelhas com parto natural e prematuro farmacologicamente induzido, visando prever a proximidade do parto.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a presença de edema vulvar pode prever o tempo para o parto, indicando que ocorrerá nas próximas 12 horas, entretanto não foi possível detectar alterações significativas na impedância do muco vaginal associadas a proximidade do parto. Além disso, a temperatura vulvar foi diferente nas ovelhas com parto induzido farmacologicamente e com parto natural nas 12 horas que antecedem ao parto. Desta maneira, a presença de edema e alteração na temperatura vulvar são capazes de prever a proximidade do parto nas 12 horas subsequentes à avaliação.

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE BIOÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Este estudo foi realizado de acordo com os princípios de ética em experimentação animal e com a aprovação do Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade Estadual Paulista, Brasil (protocolo 1053/17).

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram que não têm interesses concorrentes em relação à pesquisa, autoria e / ou publicação deste artigo.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, Conselho Nacional para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - número do processo: 309199/2017-4) e da Fundação de Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP - números dos protocolos: 2017/14957-6 e 2019/09197-8).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALHADRAMI, G. A. & FAYE, B. **Animals that Produce Dairy Food: Camel. Encyclopedia of Dairy Sciences**, 2nd Edition, p. 351-357, <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00620-X>, 2016.
- AVILA, L. G. et al. Aplicação materna de glicocorticoide nos parâmetros vitais de cordeiros nascidos a termo e prematuros. **Ciência Rural**, v. 44, p. 1106-1113, 2014.
- BARTLEWSKI, P.M. et al. The relationship between vaginal mucous impedance and serum concentrations of estradiol and progesterone throughout the sheep estrous cycle. **Theriogenology**, v. 51, p. 813-827, 1999.

BARTLEWSKI, P.M. et al. The energy cost of reproduction in sheep. **Journal do Physiology**, London, v. 167, p. 318–327, 1963. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1359397/>. Accessed: Sep. 8, 2019.

BIRGEL, E.H. et al. The preliminary stage of labor in cattle in relation to the clinical signs of labor and the course of progesterone secretion for the prediction of the calving time. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, n. 101, p. 355–359, 1994.

BOWERS, S. et al. The relationship between vaginal electrical impedance and hormone profiles during pregnancy and parturition of a white rhinoceros (*ceratotherium simum simum*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 36, p. 451-456, 2005. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17312764>. Accessed: Sep. 8, 2019. doi: 10.1638/04-097.1

BROCKWAY, J.M. et al., The energy cost of reproduction in sheep. **Journal do Physiology**, London, v. 167, n. 318, 1963.

BRUNTON, L.L. et al. Hormones and Hormone Antagonists. Chapter 59. In: _____. **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 11. Ed. Access Medicine, The McGraw-Hill Companies, 2001. Cap. 59.

BURFEIND, O. et al., Validity of prepartum changes in vaginal and rectal temperature to predict calving in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, n. 94, p.5053–5061, 2011.

CANISSO, I.F. et al. Decreasing pH of mammary gland secretions is associated with parturition and is correlated with electrolyte concentrations in prefoaling mares. **Veterinary Record**, v. 173, 2013. doi: <http://dx.doi.org/10.1136/vr.101658>

DAVIS, K. L. & MACMILLAN, K. L. Predicting the onset of parturition during late gestation in dairy cows using udder scoring and hormonal profiling. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, n. 62, p. 34-37. 2002.

DAWES, G.S. & PARRY, H.B., 1965. Premature delivery and survival in lambs. **Nature** 207, 330.

DWYER C. M. & LAWRENCE, A. B. A review of the behavioural and physiological adaptations of hill and lowland breeds of sheep that favour lamb survival. **Applied Animal Behavior Science**, n. 92, p. 235–60. doi:10.1016/j.applanim.2005.05.010, 2005.

DWYER, C.M. Genetic and physiological determinants of maternal behavior and lamb survival: Implications for low-input sheep management. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 246-258, 2007. Accessed: Sep. 8, 2019. doi:10.2527/jas.2007-0404.

DWYER, C.M.; MORGAN, C.A. Maintenance of body temperature in the neonatal lamb: Effects of breed, birth weight, and litter size. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 1093–1101. Available from: <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/84/5/1093/4804219>. Accessed: Sep. 8, 2019. doi:10.2527/2006.8451093x, 2006.

EWBANK, R. The fall in rectal temperature seen before parturition in sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**, n. 19, p. 569-571, 1969. Available from: https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/19/3/jrf_19_3_025.xml. Accessed: Sep. 8, 2019. doi: 10.1530/jrf.0.0190569.

GUYTON, A.C; HALL, J.E. Metabolismo y Regulación de la Temperatura. In: _____. **Fisiología Médica**. 10 Ed. MCGRAW-HILL/INTERAMERICANA DE ESPAÑA. 2007. Cap. XIII, p. 931-940.

INGOLDBY, L; JACKSON, P. Induction of parturition in sheep. **In Practice**, BMJ Journals, v. 23, p. 228-231, 2001. doi: 10.1136/inpract.23.4.228

JAINUDEEN, M. R. & HAFEZ, E. S. E. Gestação, Fisiologia pré-natal e Parto. In: **Reprodução Animal**. Sétima edição . B. Hafez e E. S. E. Hafez, p. 141-156, 2004.

JAINUDEEN, M.R.; HAFEZ, E. S. E. Gestação, Fisiologia pré-natal e Parto. In: _____. **Reprodução Animal**. 7 Ed . Manole:USA. 2004. Cap. 10, p. 141-156.

KORNMATITSUK, B. et al. Clinical Signs and Hormonal Changes in Dairy Heifers after Induction of Parturition with Prostaglandin F₂alpha. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 47, n. 7, p. 395–409. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1439-0442.2000.00299.x>. Accessed: Sep. 8, 2019. doi:10.1046/j.1439-0442.2000.00299.x, 2000.

KOROSUE, K., et al. Assessment for Predicting Parturition in Mares Based on Prepartum Temperature Changes Using a Digital Rectal Thermometer and Microchip Transponder Thermometry Device. **Theriogenology**, v. 74, n. 7, p. 845–850, 2012.

KYLE, B. L. et al. Measurement of vaginal temperature by radiotelemetry for the prediction of estrus in beef cows. **Theriogenology**, n. 49, p.1437–1449, 1998.

LAMMOGLIA, M.A. et al. Body Temperature and Endocrine Interactions Before and After Calving in Beef Cows. **Journal of Animal Science**, v. 75, p.2526–253, 1997. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9303472>. Accessed: Sep. 8, 2019. doi: 10.2527/1997.7592526x.

LANDIM-ALVARENGA, F. Parto Normal. In:____Prestes, N.C.; Landim-Alvarenga, F. (Eds). *Obstetrícia Veterinária*. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2006. Cap. 6, p.130-158.

MOBINI, S. et al. Teriogenologia de ovinos e caprinos. In: PUGH, D. G. *Clínica de ovinos e caprinos*. 1. ed., São Paulo: Roca, 2004. Cap. 6. p. 145-208.

NABENISHI, H.; YAMAZAKI, A. Decrease in body surface temperature before parturition in ewes. **Journal of Reproduction and Development**, v. 63, p. 185-190, 2017. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5401812/>. Accessed: Sep. 8, 2019. doi: 10.1262/jrd.2016-097.

NEVILLE, M. C. et al. The transition from pregnancy to lactation. **Pediatric Clinics of North America**, n. 48, p. 35-52, 2001.

OULLET, V. et al. Evaluation of calving indicators measured by automated monitoring devices to predict the onset of calving in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, n. 99, p. 1-10. 2016.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W, CONSTABLE, P.D. Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 10th ed. Saunder:Elsevier, Edinburgh, 2006. Cap. 3, p. 127-160.

RAMIREZ, A. et al. Behavior of the Murciano-Granadina goat in the hour before parturition. **Applied Animal Behaviour Science** n. 44, p. 29-35, 1995. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/016815919500580L>. Accessed: Sep. 8, 2019. doi: 10.1016/0168-1591(95)00580-L.

RAWLINGS, N.C.; BARTLEWSKI, P. M. **Clinical Reproductive Physiology of Ewes**. In: ROBERT S. YOUNGQUIST; WALTER R. THRELFALL. Current therapy in large animal theriogenology. 2 ed. St. Louis-MO: Elsevier Inc, 2007. cap. 87. p. 642-649.

RECH, C.L.S. et al. Temperamento e comportamento materno ovino. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 35, p. 327-340, 2011. Available from: em www.cbpa.org.br. Accessed: Sep. 8, 2019.

RØRVANG, M.V. et al. Prepartum Maternal Behavior of Domesticated Cattle: A Comparison with Managed, Feral, and Wild Ungulates. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 5, 2018. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5857534/>. Accessed: Sep. 8, 2019. doi: 10.3389/fvets.2018.00045

RUCKEBUSCH, Y., et al. **Physiology of small and large animals**, Philadelphia, 1991.

SAKATANI, M. et al. Vaginal temperature measurement by a wireless sensor for predicting the onset of calving in Japanese Black cows. **Theriogenology**, n. 111, p. 19-24, 2018. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29407423>. Accessed: Sep. 8, 2019. doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.01.016

SCHINDLER, D. et al. Vulvar electrical impedance in periparturient cows and its relation to plasma progesterone, oestradiol-17b and PGFM. *Animal Reproduction Science*, v. 23, p.283–292, 1990. doi: [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(90\)90042-E](https://doi.org/10.1016/0378-4320(90)90042-E).

SCOLARI S. C., et al. Vulvar skin temperature changes significantly during estrus in swine as determined by digital infrared thermography. **Journal of Swine Health Production**. v. 19, n. 3, p. 151–155, 2011.

SENGER, P.L. **Pathways to pregnancy and parturition**. 2.ed. Washington: Current Conceptions, 2003. Cap. 14. p. 304-325.

SUTHAR, V.S. et al. Endogenous and exogenous progesterone influence body temperature in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 5, p. 2381–2389, 2012. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22541466>. Accessed: Sep. 8, 2019. doi:10.3168/jds.2011-4450.

SWENSON, M.J.; REECE, W.O. Fisiología de los animals domésticos de Duckes. In: STABENFELDT, G.H.; EDQVIST, L.E. **Processos de la reproducción de la hembra**. 2.ed. México, 1999. Cap. 36.

TASAL, I., et al. Estimation of early pregnancy by electrical resistance values of vaginal mucosa in cows and heifers. **Revue Médecine Vétérinaire**, v. 156, n. 2, p. 91-94, 2005.

THEODOSIADOU, E.; TSILIGIANNI, T. Determination of the proper time for mating after oestrous synchronisation during anoestrous or oestrou, s by measuring electrical resistance of cervical mucus in ewes. **Veterinari Medicina**, n. 60, p. 87-93, 2015.

Available from: <https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/145795.pdf>. Accessed: Sep. 8, 2019. doi: 10.17221/7982-VETMED

VAALA, W.E.; HOUSE, J.K. Distúrbios e tratamento do neonato. In: SMITH, B.P. (Ed.). Medicina interna de grandes animais. 3.ed. São Paulo: Manole, 2006. p.255-265.

WINFIELD, C. G. & MAKIN, A.W. Prediction of the onset of parturition in sheep from observations of rectal temperature changes. **Livestock production science**, n. 2, p. 393-399, 1975.

CAPÍTULO 3 - Ultrassonografia Modo B, Doppler e Elastografia dos tecidos materno fetais durante a última semana gestacional de ovelhas Santa Inês com parto a termo e prematuro induzido¹

Jaboticabal, Brazil

Ultrassonografia Modo B, Doppler e Elastografia dos tecidos materno fetais durante a última semana gestacional de ovelhas Santa Inês com parto a termo e prematuro induzido

Mariana Garcia Kako Rodriguez^{1,5}, Ricardo Andres Ramirez Uscategui², Victor José Correia Santos¹, Priscila Del Aguila¹, Renata Sitta Gomes Mariano¹, Ana Paula Rodrigues Simões¹, Marjury Cristina Maronezi¹, Luciana Cristina Padilha-Nakaghi¹, Michele Lopes Avante¹, Pawel Bartlewski⁴, Marcus Antônio Rossi Feliciano³

¹Faculty of Agricultural and Veterinary Sciences, Univ. Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

² Federal University of Jequitinhonha Valley and Mucuri, Minas Gerais, Brasil.

³Federal University of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁴Biomedical Sciences, University of Guelph, Guelph, ON, Canada

⁵Correspondência: mariana_kako@hotmail.com

Resumo: Objetivou-se: i) descrever as características ultrassonográficas de tecidos materno fetais (fígado, pulmão, rins, placentônio e cérvix) em ovelhas gestantes com parto natural ou prematuro induzido, por meio do modo B, Doppler e elastografia - ARFI; e ii) comparar os achados obtidos entre os tipos de parto e verificar se permitirão indicar a proximidade do parto e maturidade tecidual. Trinta ovelhas Santa Inês gestantes foram selecionadas e divididas em dois grupos: 1) *GPN*: Parto Normal (n=15); e 2) *GPPI*: Parto Prematuro Induzido (n=15). Os animais foram avaliados a cada 12 horas até o momento da parturição (última semana gestacional), as ovelhas pertencentes ao *GPN* a partir do 143º dia de gestação e as do *GPPI*, a partir do 135º dia de gestação (data correspondente à indução do parto com betametasona e antiprogéstágeno aglepristona). As estruturas materno fetais (placentônio, cérvix, pulmão, fígado e rins) foram avaliadas pela ultrassonografia modo B, Doppler (índices vasculares do placentônio e artéria uterina) e elastografia ARFI: *Acoustic Radiation Force Impulse* (velocidade de cisalhamento - SWV), além do acompanhamento da frequência cardíaca fetal (FC). Estas variáveis foram comparadas entre os grupos, horas antes do parto e sua interação pela ANOVA, com medidas repetidas no tempo, e determinado o poder preditivo destas variáveis para o parto pelas curvas ROC ($p < 0,05$). As variáveis ultrassonográficas estudadas apresentaram variações significativas nas últimas 12 horas que precederam o parto no *GPPI*: velocidade diastólica final (VDF) do placentônio e da artéria uterina, assim como a FC aumentaram gradativamente ($p=0,019$, $p=0,019$, $p=0,009$, respectivamente); SWV do placentônio foi maior do que no *GPN* ($p=0,001$). Outrossim, algumas variáveis demonstraram capacidade de prever o momento do parto no *GPPI*: índice de resistência (IR) da artéria

¹ Este capítulo corresponde ao artigo científico que será submetido à revista Animal Reproduction Science.

uterina (valores $< 0,54$) com sensibilidade de 88% e especificidade de 68% e, VDF da mesma artéria (valores $> 0,34$ cm/s) com sensibilidade de 75% e especificidade de 71%; Também em ambos os grupos: velocidade de cisalhamento (SWV) do rim fetal (valores $< 1,31$ m/s) com sensibilidade de 75% e especificidade de 67%. Conclui-se que a redução da resistência vascular e aumento da VDF da artéria uterina em ovelhas com parto prematuro, bem como a diminuição da SWV do rim fetal em ovelhas com parto a termo e prematuro permitem predizer a iminência do parto nas 12 horas subsequentes. Ademais, os achados de imagem das estruturas materno-fetais são diferentes em animais com parto prematuro e a termo.

Palavras-chave: ovinos, maturação fetal, predição do parto, ultrassom, parturição prematura.

Abstract: The aim was: i) to describe sonographic characteristics of maternal and fetal tissues (liver, lungs, kidneys, placentome and cervix) in pregnant ewes with term and induced preterm parturition using B mode, Doppler and ARFI elastography; ii) to compare the findings on both parturition types and assess their ability to predict lambing and tissue maturity. Thirty pregnant Santa Inês ewes were selected and divided into two groups: 1) *TPG*: term parturition group ($n=15$); and 2) *IPPG*: induced preterm parturition group ($n=15$). The animals were examined every 12 hours along the last gestational week until lambing, group *TPG* starting at the 143th day and group *IPPG* at the 135th day. Maternal and fetal structures were assessed through B mode ultrasonography, Doppler (vascular indices of placentome and uterine artery), ARFI elastography (shear wave velocity (SWV)) and fetal heart rate (HR). Variables were compared between groups, hours before parturition and their interactions with ANOVA, with means repeated in time and predictive power for birth of these variables determined by ROC curves ($P<0.05$). In the last 12 hours before parturition in *IPPG*, placentome's and uterine artery's end diastolic velocity (EDV) and HR gradually increased ($P=0.019$; $P=0.019$; $P=0.009$); The SWV of the placentome was greater than in *TPG* ($P=0.0001$). Some variables could predict parturition in the *IPPG*: resistance index (RI) of the uterine artery (values <0.54) with 88% of sensibility and specificity of 68% and EDV of the same artery (values >0.34 cm/s) with sensibility of 75% and specificity of 67%. The decreasing of the vascular resistance and the increasing of EDV of the uterine artery in ewes with preterm parturition and the decreasing of the SWV of the fetal kidneys in ewes undergoing both parturitions indicate birth in the next 12 hours. Also, image findings are different in animals undergoing term and preterm parturitions.

Keywords: sheep, fetal maturation, delivery prediction, ultrasound, preterm delivery.

Introdução

O nascimento prematuro é fator relevante para mortalidade/morbidade perinatal em humanos (75% dos óbitos neonatais e complicações) e animais, correlacionando-se com anormalidades importantes como a síndrome da angústia respiratória (SAR), hemorragia intraventricular e enterocolite necrotizante (Salim et al., 2016). Um dos principais motivos para ocorrência do parto prematuro é o desconhecimento de sua fisiopatologia, promovendo complexidade no diagnóstico e dificultando a realização de um protocolo eficaz para profilaxia (Baquião, 2011). Quando existem riscos à saúde do concepto e mãe, a precocidade no

reconhecimento da viabilidade ou inviabilidade do feto aumenta a probabilidade de uma intervenção rápida (Canello et al., 2015).

Cordeiros prematuros tem uma baixa taxa de sobrevivência (Ingoldby & Jackson, 2001). Segundo Radosits et al. (2006) 138 dias é a idade gestacional mínima para a viabilidade de cordeiros prematuros recém-nascidos, sendo que quanto mais próxima a data da parturição fisiológica, maior a sobrevida e menor é a necessidade de suporte ventilatório (Mobini et al., 2004). Qualquer grau de dismaturidade fetal pode ter um efeito adverso na sobrevivência fetal (Ingoldby & Jackson, 2001), o que revela a importância da avaliação da maturidade em diversas espécies.

Não há técnica diagnóstica específica que determine com acurácia a maturidade fetal e indique o parto prematuro em animais. Os métodos mais eficazes são aqueles que analisam especificamente os componentes do surfactante pulmonar no líquido amniótico, colhido pela técnica de amniocentese, técnica invasiva e que pode trazer riscos ao processo gestacional (Taborda et al., 1998; Dantas et al., 2019).

A utilização de métodos não invasivos como a ultrassonografia tem sido estudada para avaliar a maturidade dos tecidos materno-fetais e determinar a ocorrência de um possível parto prematuro. Como exemplo, a utilização do Doppler na mensuração da hemodinâmica uterina, fornece informações diagnósticas úteis em mulheres com desordem hipertensiva, anormalidade responsável por 15%–20% de todos os partos prematuros (Duley, 2009). Em cadelas, as alterações no fluxo sanguíneo umbilical, detectadas pelo Doppler, podem ajudar a prever o tempo do parto, assim como indicar um potencial futuro sofrimento fetal (Giannico et al., 2015).

Recentemente, foi possível identificar pela elastografia modificações nas características da rigidez de tecidos maternos fetais em animais, provavelmente relacionadas com a maturidade e proximidade da parturição (Simões et al., 2018; Da Silva et al., 2019). Especificamente em ovinos, Da Silva et al. (2019) verificaram alterações na rigidez do tecido hepático e pulmonar

que se correlacionam com as fases de desenvolvimento dos tecidos. Sugere-se que estes resultados possam auxiliar na determinação da precocidade do parto, além de presumir a maturidade dos tecidos avaliados.

Considerando que os ovinos são modelo experimental adequado para estudos sobre a gestação e maturidade tecidual em conceitos humanos (Barry & Anthony, 2008; Regazzi, 2015), hipotetizamos que: i) as alterações morfofisiológicas de tecidos materno fetais durante a última semana gestacional em ovelhas de parto a termo e prematuro induzido podem ser verificadas por achados ultrassonográficos, auxiliando na predição do parto; ii) os achados de imagem das estruturas materno-fetais são diferentes em ovelhas gestantes com parto a termo e prematuro induzido farmacologicamente. Os objetivos deste estudo foram descrever as características ultrassonográficas de tecidos materno fetais (fígado, pulmão, rins, placentônio e cérvix) em ovelhas gestantes de parto a termo e prematuro induzido por meio do modo B, Doppler e elastografia – ARFI; e comparar os achados obtidos entre os grupos para verificar se permitem indicar a proximidade do parto e maturidade tecidual.

Conclusão

As variáveis ultrassonográficas (modo B, Doppler e elastográficas) permitiram detectar alterações morfofisiológicas nos tecidos maternos fetais durante a última semana gestacional em ovelhas e, com isso a redução da resistência vascular e aumento da VDF da artéria uterina em ovelhas com parto prematuro, bem como a diminuição da SWV do rim fetal em ovelhas com parto a termo e prematuro podem predizer a iminência do parto nas 12 horas subsequentes. Ademais, os achados de imagem das estruturas materno fetais (VDF placentônio e artéria uterina, VPS placentônio e SWV placentônio e rim) são diferentes em animais com parto prematuro e a termo. Tais resultados podem contribuir para o conhecimento de parâmetros fisiológicos ou indicar ao veterinário a necessidade de medidas preventivas ou de profilaxia para prevenção de parto prematuro ou imaturidade neonatal.

Financiamento: O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001, Fundação de Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (processo 2017/14957-6) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (processo 309199/2017-4).

Referências Bibliográficas

- Adekanmi, A.J., Roberts. A., Akinmoladun, J.A., Adeyinka, A.O., 2019. Uterine and umbilical artery Doppler in women with pre-eclampsia and their pregnancy outcomes. *Niger Postgrad Med J.* 26, 106-12.
- Avila, L.G., Bovino, F., Camargo, D.G., Souza, N.C., Santos, G.G.F., Maurício Deschk, M., Mendes, L.C.N., Feitosa, F.L.F., 2014. Aplicação materna de glicocorticoide nos parâmetros vitais de cordeiros nascidos a termo e prematuros. *Ciência Rural.* 44, 1106-1113.
- Baquião, I. Trabalho de parto premature: fatores de risco e estratégias para a sua predição e prevenção. Trabalho de conclusão de curso – Curso de especialização em atenção básica em Saúde da Família, Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.
- Barry, J.S., Anthony, R.V., 2008. The pregnant sheep as a model for human pregnancy. *Theriogenology.* 69, 55-67.
- Breeveld-Dwarkasing, V.N.A., Struijk, P.C., Lotgering, F.K., Eijskoot, F., Kindahl, H., van der Weijden, G.C., Taverne, M.A.M., 2003. Cervical Dilatation Related to Uterine Electromyographic Activity and Endocrinological Changes During Prostaglandin F2a-Induced Parturition in Cows. *Biology of Reproduction.* 68, 536-542.
- Brennan, S., Watson, D., Rudd, D., Schneide,r M., Kandasamy, Y., 2017. Evaluation of fetal growth using ultrasound: A systematic review. *European Journal of Radiology.* 96, 55-64.
- Brieger, G.M., Ning, X.H., Dawkins, R.R., Ying, K.Q., Weng, C., Chang, A.M., 1997. Transvaginal sonographic assessment of cervical dynamics during the third trimester of normal pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 76, 118-22.
- 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., 2015. Estudo da maturidade fetal canina em fase final de gestação: aplicabilidade diagnóstica. *Veterinaria e Zootecnia,* 22, 513-521.

- Dantas, G.N., Santarosa, B.P., Santos, V.H., Benesi, F.J., Gonçalves, R.C., 2019. Evaluation of pulmonary maturity in bovine neonates: analysis of amniotic fluid. *Brazilian Journal of Veterinary Research*. 39, 600-605.
- Da Silva, P.D.A., Uscategui, R.A.R., Santos, V.J.C., Taira, A.R, Mariano, R.S.G., Rodrigues, M.G.K., Simões, A.P.R., Maronezi, M.C., Avante, M.L., Vicente, W.R.R., Feliciano, M.A.R., 2018. Qualitative and quantitative ultrasound attributes of maternal-foetal structures in pregnant ewes. *Reproduction in Domestic Animals*, 53, 725–732.
- Da Silva, P.D.A., Uscategui, R.A.R., Santos, V.J.C., Taira, A.R, Mariano, R.S.G., Rodrigues, M.G.K., Simões, A.P.R., Maronezi, M.C., Avante, M.L., Vicente, W.R.R., Feliciano, M.A.R., 2019. Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography to asses maternal and foetal structures in pregnant ewes. *Reproduction in Domestic Animals*, 54, 498-505.
- Dawes, G.S., Parry, H.B., 1965. Premature delivery and survival in lambs. *Nature* 207, 330.
- Descôteaux, L., Gnemmi, G., Colloton, J., 2010. *Practical Atlas of Ruminant and Camelid Reproductive Ultrasonography*. Blackwell Publishing, United State of America
- Fierbinteanu-Braticevici, C., Andronescu, D., Usvat, R., Cretoiu, D., Baicus, C., Marinoschi, G., 2009. Acoustic radiation force imaging sonoelastography for noninvasive staging of liver fibrosis. *World Journal Gastroenterology*, 15, 5525-5532.
- Duley, L., 2009. The Global Impact of Pre-eclampsia and Eclampsia. *Seminars in Perinatology*. 33, 130–137.
- Elmetwally, M., Rohn, K., Meinecke-Tillmann, S., 2016. Noninvasive color Doppler sonography of uterine blood flow throughout pregnancy in sheep and goats. *Theriogenology* 85, p.1070-1079.
- Edevbie, J.P, Akhigbe, A.O., 2018. Ultrasound measurement of fetal kidney length in normal pregnancy and correlation with gestational age. *Niger J Clin Pract* 2018;21:960-6.
- Feliciano, M.A.R., Vicente, W.R.R., Silva, M.A.M., 2012. Conventional and Doppler ultrasound for the differentiation of benign and malignant canine mammary tumours. *Journal of Small Animal Practice*, 53, p. 332-337.
- Giannico, A.T., Gil, E.M.U., Garcia, D.A.A., Froes, T.R., 2015. The use of Doppler evaluation of the canine umbilical artery in prediction of delivery time and fetal distress. *Animal Reproduction Science*, 154, 105–112.
- Gil, E.M.U., Garcia, D.A.A., Giannico, A.T., Froes, T.R., 2018 Early results on canine fetal kidney development: Ultrasonographic evaluation and value in prediction of delivery time. *Theriogenology*. 107, 180-187.

- Grannum, P.A.T., Berkowitz, R.L., Hobbins, J.C., 1979. The ultrasonic changes in the maturing placenta and their relation to fetal pulmonic maturity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 133, 915–922.
- Hsu, W.H., 1998. *Handbook of veterinary pharmacology*, 1st ed. Wiley-Blackwell.
- Jobe, A.H., Newnham, J., Willet, K., Sly, P., Ikegami, M., 1998. Fetal Versus Maternal and Gestational Age Effects of Repetitive Antenatal Glucocorticoids. *Pediatrics*. 102, 1116-1125, 1998.
- Jobe, A.H., Newnham, J.P., Moss, T.J, Ikegami, M., 2003. 1. Differential effects of maternal betamethasone and cortisol on lung maturation and growth in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 188, 22-28.
- Jobe AH, Nitsos I, Pillow JJ, Polglase, G.R., Kallapur, S.G., Newnham, J.P., 2009. Betamethasone dose and formulation for induced lung maturation in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 201, 611.e1-7.
- Lee, M., Yuehong, M., LaChapelle, L, Kadner, S.S, Guller, S., 2004. Glucocorticoid Enhances Transforming Growth Factor- β Effects on Extracellular Matrix Protein Expression in Human Placental Mesenchymal Cells. *Biology of Reproduction*. 70, 1246–1252.
- Mesiano, S., DeFranco, E., Muglia, L.J., 2014. *Physiology of Reproduction (Fourth Edition)* In: Knobil and Neill's. Parturition.
- Mobini, S., Heath, A.M., Pugh, D.G., 2004. Teriogenologia de ovinos e caprinos, 1. ed. In: Pugh, D.G. *Clínica de ovinos e caprinos*. São Paulo: Roca, Cap. 6. pp. 145-208.
- Mcllin, V.A., Zorn, A.M., 2006. Molecular control of liver development. *Clinical Liver Disease*. 10, 11–25.
- Owen, J., Iams, J. D., 2003. What we have learned about cervical ultrasound. *Seminars in Perinatology*. 27, 194–203.
- 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., 2015. 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*, 10, 1-21.
- Petrucha, R. A., Golde, S. H., Platt, L. D., 1982. Real-time ultrasound of the placenta in assessment of fetal pulmonic maturity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 142, 463–467.

- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D., 2006. *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. 10th ed. Saunders:Elsevier, Edinburgh. Cap. 3, pp. 127-160.
- Ragozzino, M.W., Hill, L.M., Breckle, R., Ellefson, R.D., Smith, R.C., 1983. The relationship of placental grade by ultrasound to markers of fetal lung maturity. *Radiology*, 148, 805–807.
- Ryan, D., Sutherland, M.R., Flores, T.J., Kent, AL, Dahlstrom, J.E., Puelles, V.G., Bertram, J.F., McMahon, A.P., Little, M.H., Moore, L., Black, M.J., 2018. Development of the Human Fetal Kidney from Mid to Late Gestation in Male and Female Infants. *EBioMedicine*, 27, 275–283.
- Reynolds, L.P., Grazul-Bilska, A.T., Redmer, D.A., 2002. Angiogenesis in the female reproductive organs: pathological implications. *International Journal of Experimental Pathology*.83, 151-163.
- Salamanca, A., Carrillo, A., Palomino, M., 2002. Predicción de la madurez fetal mediante la caracterización ultrasónica del pulmón. *Progresos de Obstetricia y Ginecología*, 45, 96–103.
- Salim, R., Suleiman, A., Colodner, R., Nachum, Z., Goldstein, L.H., Shalev, E., 2016. Measurement of betamethasone concentration in maternal serum treated for fetal lung maturity; Is it feasible? *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14, 2-5.
- Santos, V.J.C., Rodriguez, M.G.K., da Silva, P.A., Mariano, R.S.G, Taira, A.R., Almeida, V.T., Uscategui, R.A.R., Nociti, R.P., Teixeira, P.P.M., Feliciano, M.A.R., Vicente, W.R.R., 2018. B-mode ultrasonography and ecobiometric parameters for assessment of embryonic and fetal development in sheep. *An Reprod Sci*, 197, 193-202.
- Schmidt, A.F, Kemp, M.W, Rittenschober- Boßhm, J., 2018. Low-dose betamethasoneacetate for fetal lung maturation in preterm sheep. *Am J Obstet Gynecol*, 9, 218:132..
- Schwab, M., Coksayga,n T., Nathanielsz, P.W., 2006. Betamethasone effects on ovine uterine and umbilical placental perfusion at the dose used to enhance fetal lung maturation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 194, 572-579.
- Simões, A.P.R., Feliciano, M.A.R., Maronezi, M.C., Uscategui, R.A.R., Bartlewski P.M., Almeida, V.T., Oh, D., Silva, P.E.S., Da Silva, L.C.G., Vicente, W.R.R., 2018. Elastographic and echotextural characteristics of foetal lungs and liver during the final 5 days of intrauterine development in dogs. *Anim Reprod Sci*, 197, 170-176.
- Smith, C.V., Anderson, J.C., Matamoros, A., Rayburn, W.F., 1992. Transvaginal sonography of cervical width and length during pregnancy. *J Ultrasound Med*. 11, 465-7.

- Stonestreet, B.S., Hansen, N.B., Laptook, A.R., Oh, W., 1983. Glucocorticoid accelerates renal functional maturation in fetal lambs. *Early Human Development*. 8, 331-341.
- Sutherland, M.R., Gubhaju, L., Moore, L., Kent, A.L., Dahlstrom, J.E., Horne, R.S.C., Hoy, W.E., Bertram, J.F., Black, M.J., 2011. Accelerated Maturation and Abnormal Morphology in the Preterm Neonatal Kidney. *Clinical Research. Am Soc Nephrol*, 22, 1365–1374.
- Syversveen, T., Brabrand, K., Midtvedt, K., Strom, E.H., Hartmann, A., Jakobsen, J.A., Berstad, A.E., 2011. Assessment of renal allograft fibrosis by acoustic radiation force impulse quantification – a pilot study. *Transplant International*, 24, 100-105.
- Taborda, W., Almeida, M.F.B., Moron, A.F., Bertini, A.M., 1998. Avaliação da maturidade pulmonar fetal em gestações de alto risco. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 20, 315-321.
- Veiga, G.A.L., Angrimani, D.S.R., Silva, L.C.G., Regazzi, F.M., Lúcio, C.F., Vannucchi, C.I., 2018. Hemodynamics of the uterine and umbilical arteries during the perinatal period in ewes. *Animal Reproduction Science*. 198, 210–219.
- Yilmaz, Ö.T., Gündüz, M.C., Evkuran, Dal G., Uçmak, M., Günay Uçmak, Z., Karaçam., Kaşıkçı, G., Kiliçarslan, M.R., 2017. Evaluation of changes in Doppler ultrasonography indices and levels of maternal serum angiogenic factors throughout pregnancy in ewes. *Theriogenology*. 89, 183–191.
- Van Dessel, H.J.H.M., Frijns, J.H.M., Kok, F.T.J.G.T., Wallenburg, H.C.S., 1994. Ultrasound assessment of cervical dynamics during the first stage of labor. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 53, 123–127.
- Zaret, K.S., 2002. Regulatory phases of early liver development: Paradigms of organogenesis. *Nature Reviews Genetics*, 3, 499–512.
- Zhao, R., Duncan, S.A., 2005. Embryonic development of the liver. *Hepatology*, 41, 956–967.
- Zoller, D.K., Vassiliadis, P.M., Voigta, K., Sauter-Louisa, C., Zerbea, H., 2015. Two treatment protocols for induction of preterm parturition in ewes—Evaluation of the effects on lung maturation and lamb survival. *Small Ruminant Research* 124, 112–1