

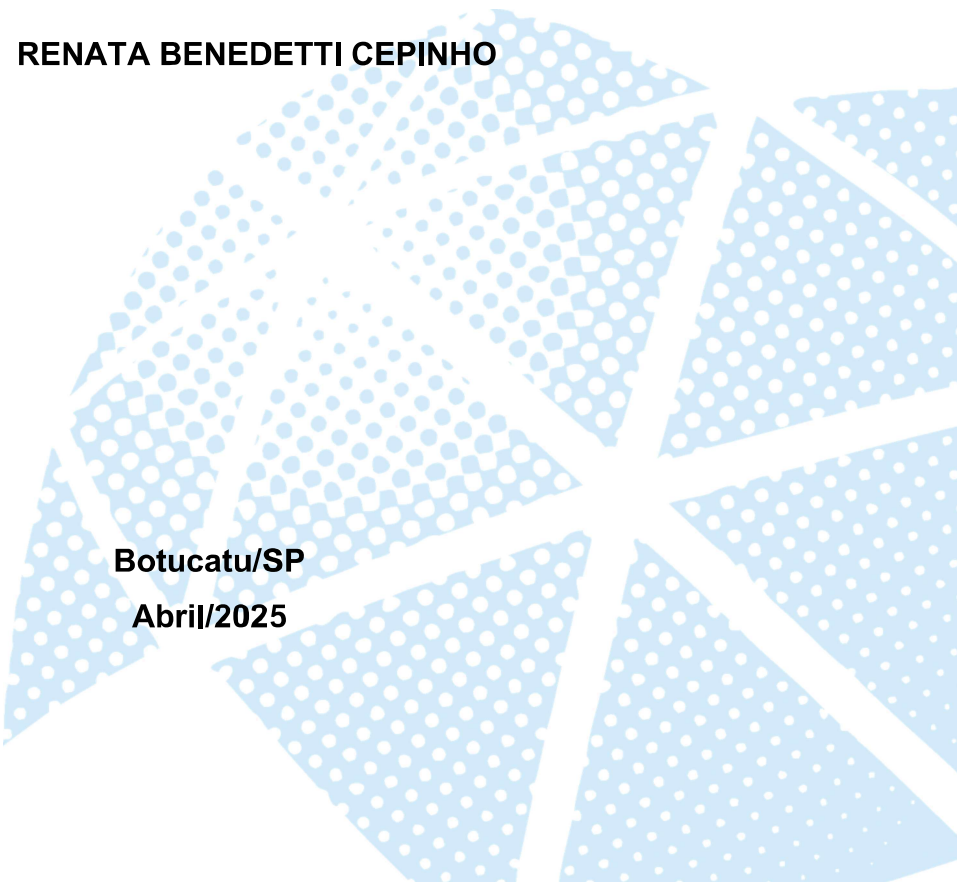
**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA FACULDADE DE
MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**INFLUÊNCIA DA PRÉ-CARGA NA FUNÇÃO ATRIAL ESQUERDA
E NO DÉBITO CARDÍACO DE CÃES DOADORES DE SANGUE
SUBMETIDOS À MANOBRA MODIFICADA DE ELEVAÇÃO
PASSIVA DOS MEMBROS PÉLVICOS**

RENATA BENEDETTI CEPINHO

Botucatu/SP

Abril/2025



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP), FACULDADE DE
MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA - CAMPUS DE BOTUCATU/SP

**INFLUÊNCIA DA PRÉ-CARGA NA FUNÇÃO ATRIAL
ESQUERDA E NO DÉBITO CARDÍACO DE CÃES DOADORES
DE SANGUE SUBMETIDOS À MANOBRA MODIFICADA DE
ELEVAÇÃO PASSIVA DOS MEMBROS PÉLVICOS**

RENATA BENEDETTI CEPINHO

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária da UNESP –
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre.

Orientador(a): Profa. Dra. Maria
Lucia Gomes Lourenço

Botucatu/SP

Abril/2025

C399i

Cepinho, Renata Benedetti

Influência da pré-carga na função atrial esquerda e no débito cardíaco de cães doadores de sangue submetidos à manobra modificada de elevação passiva dos membros pélvicos / Renata Benedetti Cepinho. -- Botucatu, 2025

87 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientadora: Maria Lucia Gomes Lourenço

1. Medicina veterinária. 2. Cães. 3. Ecocardiografia veterinária. 4. Débito cardíaco. 5. Hipovolemia. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Esta pesquisa tem relevância em diversas áreas. O uso de cães doadores de sangue como modelo para redução aguda de pré-carga melhora o entendimento dos mecanismos hemodinâmicos em hipovolemia, contribuindo para a cardiologia veterinária. A manobra modificada de elevação passiva dos membros pélvicos (EPMP) oferece um método não invasivo para avaliar a responsividade a fluidos na prática clínica.

Os resultados beneficiam a prática veterinária e a saúde pública, otimizando o manejo crítico. O uso de cães doadores segue os princípios dos 3Rs, minimizando procedimentos invasivos. Além disso, a pesquisa pode aumentar a eficiência e reduzir custos nas práticas clínicas.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This research is relevant in various areas. The use of blood donor dogs as a model for acute preload reduction enhances the understanding of hemodynamic mechanisms in hypovolemia, contributing to veterinary cardiology. The modified passive limb elevation maneuver (EPMP) provides a non-invasive method to assess fluid responsiveness in clinical practice.

The results benefit veterinary practice and public health by optimizing critical management. The use of blood donor dogs adheres to the principles of the 3Rs, minimizing invasive procedures. Furthermore, the research may increase efficiency and reduce costs in clinical practices.

ATESTADO DE APROVAÇÃO - DEFESA

Atestamos que RENATA BENEDETTI CEPINHO, RA nº: MVB230235, RG nº 350802853, expedido pela, defendeu, no dia 30/04/2025, a dissertação intitulada INFLUÊNCIA DA PRÉ-CARGA NA FUNÇÃO ATRIAL ESQUERDA E NO DÉBITO CARDÍACO DE CÃES DOADORES DE SANGUE SUBMETIDOS À MANOBRA MODIFICADA DE ELEVAÇÃO PASSIVA DOS MEMBROS PÉLVICOS, junto ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Curso de Mestrado Acadêmico, tendo sido 'APROVADA'.

Atestamos ainda que a obtenção do título dependerá de homologação pelo Órgão Colegiado competente.

Botucatu, 30 de abril de 2025

Documento emitido às 21:32 do dia 01/06/2025
Código de autenticidade: DAB0-B7E9-B760-DBF7-9C28-438C-A5AA-3B3C
Documento válido até às 21:32 do dia 31/07/2025



ATENÇÃO: Este é um documento oficial da Pós-graduação da UNESP, com autenticação eletrônica através da página <https://app.unesp.br/sispg/autenticidade-documento>, que dispensa carimbo e assinatura.

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Câmpus de Botucatu -
Rua Prof. Dr. Walter Maurício Correa, s/n, 18618681

Nome da autora: Renata Benedetti Cepinho

Título: Influência da pré-carga na função atrial esquerda e no débito cardíaco de cães doadores de sangue submetidos à manobra modificada de elevação passiva dos membros pélvicos

Comissão Examinadora:

Profa. Dra. Maria Lucia Gomes Lourenço
Departamento de Clínica Veterinária
UNESP - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Campus de Botucatu

Profa. Dra. Bertha Furlan Polegato
Departamento de Clínica Médica
UNESP - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina - Campus de Botucatu

Prof. Dr. Marlos Gonçalves Sousa
Departamento de Medicina Veterinária
UFPR - Universidade Federal do Paraná (UFPR), Faculdade de Medicina Veterinária

Data da Defesa: 30 de abril de 2025.

Dedico este trabalho à minha família, pilares da minha vida. Que meus filhos saibam que trilhar o caminho do que amam, no seu próprio tempo, vale cada passo.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão à minha orientadora, Profa. Dra. Maria Lucia Gomes Lourenço, pelo apoio incondicional e orientação ao longo deste trabalho. Também agradeço à minha amiga Mayra Lima, cuja amizade e encorajamento foram fundamentais durante esta jornada.

Agradeço ainda ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UNESP – FMVZ, Botucatu, pelo suporte institucional, bem como à empresa Hemocentro pela fiel parceria e à Univet, pela gentileza em ceder o Echopac – ambos recursos essenciais para o desenvolvimento deste estudo.

Por fim, sou imensamente grata aos tutores e aos tão importantes cães doadores de sangue, que tornaram esta pesquisa possível. Essas contribuições são inestimáveis para o avanço da Medicina Veterinária e para o bem-estar animal.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Função reservatória, condutora e ativa do átrio esquerdo ao longo do ciclo cardíaco (parte superior), com curvas de volume correspondentes (parte inferior).....	4
FIGURA 2 - Ilustração da manobra de elevação passiva das pernas (EPP)	9
FIGURA 3 - Posicionamento da prancha de madeira antes e durante a EPPM em porcos Landrace	10
FIGURA 4 - Representação visual da manobra EPMP realizada em cães saudáveis e anestesiados	11
FIGURA 5 - Imagens que ilustram a EPMP no presente estudo, posicionamento do paciente e uso do encosto ortopédico.	16
FIGURA 6 - Medida do volume atrial esquerdo (AE) a partir do corte apical quatro câmaras.	18
FIGURA 7 - Visão ecocardiográfica do corte quatro câmaras apical representando a região de interesse (ROI).	19
FIGURA 8 - Fluxos doppler transmitrais e aórticos.	20

LISTA DE TABELA

TABELA 1 - Características demográficas e de peso dos cães avaliados no estudo.....	23
TABELA 2 - Comparação das variáveis por doppler de cães doadores de sangue nos momentos T0 (antes da doação), T1 (após a doação) e T2 (com EPMP)	24
TABELA 3 - Comparação das variáveis ecocardiográficas (média $\pm$ desvio padrão) volumétricas do átrio esquerdo em cães doadores de sangue nos momentos T0 (antes da doação), T1 (após a doação) e T2 (com EPMP)	24
TABELA 4 - Comparação das fases (média $\pm$ desvio padrão) do átrio esquerdo de cães doadores de sangue pelo método <i>strain</i> nos momentos T0 (antes da doação), T1 (após a doação) e T2 (com EPMP).....	25
TABELA 5 - Comparação da significância (valor p) dos parâmetros ecocardiográficos entre os momentos T0 (antes da doação), T1 (após a doação) e T2 (EPMP) no subgrupo de cães que doaram ≥ 10 ml/kg de sangue.....	27
TABELA 6 - Resumo estatístico das variações percentuais de Vel_max e VTI_MAX nos grupos total e no subgrupo com perda sanguínea ≥ 10 mL/kg, com classificação de resposta.....	28
TABELA 7 - Acurácia da Vel_max e do VTI_MAX nos tempos T0, T1 e T2 para prever a resposta à manobra de elevação passiva dos membros pélvicos, no grupo total e no subgrupo com perda sanguínea ≥ 10 mL/kg	30
TABELA 8 - Coeficientes de variação intradia e interdia das variáveis ecocardiográficas e respectivas classificações quanto à reprodutibilidade intraobservador	31
ANEXO A - Análise descritiva dos parâmetros ecocardiográficos, peso e bolsa de sangue dos animais do estudo	54
ANEXO B - Análise descritiva dos parâmetros ecocardiográficos, peso e bolsa de sangue do subgrupo doador ≥ 10 ml/kg de sangue	58
ANEXO C – Gráficos boxplots das variáveis ecocardiográficas dos animais do estudo	62
ANEXO D – Gráficos boxplots das variáveis ecocardiográficas do subgrupo de animais do estudo	68
ANEXO E - Comparação da significância (valor p) dos parâmetros ecocardiográficos em todos os cães entre os momentos T0 (antes da doação), T1 (após a doação) e T2 (após EPMP)	74

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Medidas ecocardiográficas armazenadas para pós-processamento 17

QUADRO 2 - Fórmulas das variáveis referentes à função atrial esquerda pelo método volumétrico..... 21

QUADRO 3 - Fórmulas referentes ao fluxo aórtico..... 21

LISTA DE ABREVIATURAS

ACVIM - American College of Veterinary Internal Medicine
AE - Átrio Esquerdo
CSI_med - Índice de strain na contração (mediana)
CSI_média - Índice de strain circunferencial (média)
DC – Débito cardíaco
DEDC – Doppler Esofágico para Débito Cardíaco
ECG – Eletrocardiograma
EPMP – Elevação Passiva de Membros Pélvicos
ETEDC – Ecocardiograma Transesofágico para Débito Cardíaco
FAAE - Fração ativa atrial esquerda
FAE - Função Atrial Esquerda
FEAE - Fração de ejeção atrial esquerda
FPAE - Fração passiva atrial esquerda
IEAE - Índice de expansão atrial esquerda
Med - Mediana
OndaA - Velocidade da onda A
OndaE - Velocidade média da onda E
PLR – *Passive Leg Raising*
PPV – Variação de Pressão de Pulso
PVI – Índice de Variação Pletimosgráfica
RCP – Reanimação Cardiopulmonar
StCD - Strain da fase condutora
StCT - Strain da fase de contração atrial
StR - Strain da fase reservatória
T0 – Tempo imediatamente antes da doação de sangue
T1 – Tempo imediatamente após doação de sangue
T2 – Tempo um minuto após a manobra de elevação passiva dos membros pélvicos (EPMP)
VAEj - Volume de ejeção atrial esquerda
VAAE - Volume ativo atrial esquerdo
Vel_max - Velocidade máxima do fluxo aórtico
Vel_min - Velocidade mínima do fluxo aórtico
Vol_max - Volume máximo
Vol_min - Volume mínimo
Vol_preA - Volume pré-contração atrial
VPAE - Volume passivo atrial esquerdo
VTI_MAX - Integral da velocidade-tempo máxima aórtica
VTI_MIN - Integral da velocidade-tempo mínima aórtica
 Δ Vel - Variabilidade da velocidade aórtica
 Δ VTI - Variabilidade do VTI (Velocity-Time Integral)

Cepinho, R. B. Influência da pré-carga na função atrial esquerda e no débito cardíaco de cães doadores de sangue submetidos à manobra modificada de elevação passiva dos membros pélvicos, Botucatu, 2025, 87pp, Mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (UNESP), Câmpus de Botucatu.

RESUMO

Introdução: A função atrial esquerda (FAE) é crucial na hemodinâmica, porém os efeitos da variação de pré-carga sobre suas variáveis ecocardiográficas são pouco compreendidos. A elevação passiva dos membros pélvicos (EPMP) avalia responsividade volêmica em humanos, com eficácia incerta em cães. **Objetivos:** Investigar cães doadores de sangue como modelo para variação de pré-carga, identificar variáveis ecocardiográficas independentes de pré-carga e avaliar a eficácia da EPMP na reversão volêmica. **Métodos:** Vinte e seis cães saudáveis avaliados ecocardiograficamente antes (T0), após (T1) a doação sanguínea e após a EPMP (T2). Foram analisados volumes fásicos de átrio esquerdo e FAE, *strain* atrial, fluxo transmitral, velocidade aórtica, integral velocidade-tempo (VTI) e suas variabilidades. **Resultados:** Identificou-se comportamento estável frente à variação de pré-carga nas seguintes variáveis: variabilidade da velocidade aórtica ($p = 0,4317$), variabilidade do VTI ($p = 0,8869$), *strain* na fase de condução ($p = 0,0706$), índice de *strain* na contração atrial ($p = 0,7275$), volume mínimo do átrio esquerdo ($p = 0,6926$), volume pré-contração atrial esquerda ($p = 0,0825$), volume de ejeção passiva ($p = 0,2276$) e fração de ejeção passiva do átrio esquerdo ($p = 0,7768$). Nenhuma variável apresentou diferença significativa entre T1 e T2. **Conclusões:** A redução da pré-carga influenciou a função do AE, o fluxo mitral e o débito cardíaco em cães saudáveis. No entanto, a EPMP não foi eficaz na reversão desses efeitos. Os cães doadores são um modelo viável para estudos hemodinâmicos, viabilizando pesquisas sobre hemodinâmica não invasiva.

Palavra-chave: Ecocardiografia, função atrial esquerda, elevação passiva dos membros pélvicos, doação de sangue, hemodinâmica não invasiva

CEPINHO, R. B. Influence of preload on left atrial function and cardiac output in blood donor dogs undergoing modified passive leg raise maneuver, Botucatu, 2025, 87pp, Master's degree, São Paulo State University (UNESP), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus.

ABSTRACT

Background: Left atrial function (LAF) is crucial in hemodynamics; however, the effects of preload variation on its echocardiographic variables are poorly understood. Passive Leg Raising (PLR) assesses volume responsiveness in humans, with uncertain efficacy in dogs. **Objectives:** To investigate blood donor dogs as a model for preload variation, identify echocardiographic variables independent of preload, and evaluate the effectiveness of PLR in volume recovery. **Methods:** Twenty-six healthy dogs were evaluated echocardiographically before (T0), after (T1) blood donation, and after PLR (T2). Volumes and LAF, atrial strain, transmitral flow, aortic velocity, velocity-time integral (VTI), and their variabilities were analyzed. **Results:** The following variables were identified as preload-independent: aortic velocity variability ($p = 0.4317$), VTI variability ($p = 0.8869$), conduit phase strain ($p = 0.0706$), atrial contraction strain index ($p = 0.7275$), minimum left atrial volume ($p = 0.6926$), pre-atrial contraction volume ($p = 0.0825$), passive emptying volume ($p = 0.2276$), and passive emptying fraction ($p = 0.7768$). No significant differences were observed between T1 and T2 for any of these parameters. **Conclusions:** Preload reduction influenced LA function, mitral flow, and cardiac output in healthy dogs. However, PLR was not effective in reversing these effects. Blood donor dogs are a viable model for hemodynamic studies, enabling research on non-invasive hemodynamics.

Keywords: Echocardiography, left atrial function, passive leg raising, blood donation, noninvasive hemodynamics

SUMÁRIO

Capítulo 1

1	Introdução	1
2	Revisão de literatura	2
3	Objetivos.....	13
3.1	Objetivos gerais	13
3.2	Objetivos específicos	13
4	Material e métodos	13
4.1	Comissão de ética no uso de animais	13
4.2	População estudada	13
4.2.1	Recrutamento dos animais	13
4.2.2	Critérios de inclusão	14
4.2.3	Critérios de exclusão	15
4.2.4	Avaliação hemodinâmica	15
4.2.4.1	Método volumétrico	17
4.2.4.2	Método <i>strain</i>	18
4.2.4.3	Método doppler pulsado	20
4.2.5	Delineamento estatístico	20

Capítulo 2

	Resultados	22
	Discussão	31
	Conclusão	37
	Bibliografia	37

Capítulo 3

	Trabalho científico	43
--	---------------------------	----

1 INTRODUÇÃO

O átrio esquerdo (AE) exerce papel fundamental na dinâmica cardíaca, contribuindo significativamente para o débito cardíaco por meio de três fases funcionais interdependentes: reservatória, condutora e contrátil (MATSUMOTO et al., 2014; MARINO et al., 2019). Tradicionalmente, a atenção clínica e científica concentrou-se nas funções sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo (HÖLLMER et al., 2013; SILBIGER, 2019; FREID et al., 2021). No entanto, a compreensão da função atrial tem avançado de forma expressiva, destacando sua importância em diversas condições cardíacas Veterinária (HÖLLMER et al., 2013; OSUGA et al., 2015; NAKAMURA et al., 2017; CAIVANO et al., 2018; COELHO et al., 2020; TOSUWAN et al., 2023).

Nesse contexto, a ecocardiografia destaca-se como o método de eleição para avaliação da função cardíaca na medicina veterinária, por ser amplamente acessível, segura e capaz de fornecer imagens em tempo real com boa resolução temporal e espacial (MATSUMOTO et al., 2014; HOIT, 2018). Embora sua aplicação em pacientes críticos possa ser desafiadora devido a limitações práticas como ventilação mecânica ou curativos, o exame permanece essencial na rotina clínica, desde que interpretado com a devida cautela (ORDE et al., 2017).

Entre as modalidades ecocardiográficas disponíveis, a análise da deformação miocárdica por speckle tracking (STE) tem se destacado por permitir a detecção precoce de disfunções atriais e ventriculares, além de fornecer dados prognósticos com sensibilidade superior às abordagens convencionais (ABDUCH et al., 2014; HOIT, 2018). No entanto, a interpretação dessas variáveis pode ser influenciada por alterações na pré-carga, cuja interferência ainda não está completamente elucidada, especialmente em cães (COELHO et al., 2020; COELHO et al., 2018; SAVARINO et al., 2024).

Paralelamente, a avaliação da responsividade à fluidoterapia em pacientes críticos é um aspecto central na medicina intensiva. Embora a infusão rápida de cristaloides ou coloides (“prova de carga”) seja amplamente empregada para tratar hipovolemia, essa abordagem pode resultar em

sobrecarga hídrica e aumento da mortalidade em determinadas condições clínicas (PRÉAU et al., 2010; MESSMER et al., 2020).

Como alternativa mais segura e reversível, a manobra de elevação passiva dos membros pélvicos (EPMP) tem sido explorada como ferramenta funcional para simular uma autotransfusão temporária, redistribuindo o volume sanguíneo e permitindo a avaliação não invasiva da resposta volêmica. Por não depender da análise da variação respiratória do débito cardíaco, a EPMP mostra-se particularmente vantajosa em pacientes em respiração espontânea ou com arritmias (TEBOUL; MONNET, 2008; JABOT et al., 2009; ALVARADO-SÁNCHEZ, 2015).

Estudos recentes demonstraram que a EPMP é capaz de aumentar o débito cardíaco em animais anestesiados sob ventilação mecânica em condições de hipovolemia, sugerindo sua utilidade para identificar pacientes respondedores à fluidoterapia (PARANJAPE et al., 2019; 2023a; 2023b). No entanto, a literatura veterinária ainda é escassa em evidências que sustentem sua aplicação em cães acordados e respirando espontaneamente, o que limita sua incorporação à prática clínica veterinária.

Diante disso, o presente estudo prospectivo, experimental e observacional teve como objetivo avaliar a viabilidade de cães doadores de sangue como modelos em respiração espontânea para investigar variações agudas de pré-carga e seus efeitos na função atrial esquerda (FAE) e no débito cardíaco. Além disso, buscou identificar as variáveis ecocardiográficas menos dependentes das alterações de carga e determinar a aplicabilidade da manobra de elevação passiva dos membros pélvicos (EPMP) como alternativa à prova de carga para avaliar a responsividade a fluidos na prática clínica veterinária.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A função do átrio esquerdo (FAE) é crucial para modular o enchimento do ventrículo esquerdo e, conseqüentemente, o desempenho cardiovascular. O átrio esquerdo (AE) atua como reservatório do fluxo venoso pulmonar durante a sístole ventricular, como conduto na fase passiva da diástole ventricular e como

bomba impulsionadora na fase ativa da diástole, aumentando o enchimento ventricular. Essas funções estão inter-relacionadas e dependem do ciclo cardíaco, sendo influenciadas por fatores como complacência atrial, contração e relaxamento do ventrículo esquerdo. A avaliação da função do átrio esquerdo (FAE) é fundamental, pois o volume máximo do AE correlaciona-se fortemente com doenças cardiovasculares, oferecendo informações prognósticas superiores a simples medições de tamanho (HOIT, 2018).

Vale ressaltar que átrio e ventrículo são interdependentes e há uma complexa relação entre eles. A cavidade atrial esquerda, de fato, está intimamente relacionada à função ventricular ao longo de todo o ciclo cardíaco (MARINO et al., 2019). Durante a sístole ventricular, o encurtamento longitudinal das fibras cardíacas força a descida da base cardíaca, contribuindo para o enchimento atrial proveniente das veias pulmonares, enquanto, durante a diástole, o átrio contribui passiva e ativamente para o enchimento ventricular. Como a cavidade atrial, durante a diástole precoce e média, é diretamente exposta à pressão ventricular através da válvula mitral aberta, o padrão de esvaziamento atrial é fortemente influenciado pelas propriedades diastólicas do ventrículo esquerdo (MATSUMOTO et al., 2014; MARINO et al., 2019).

Mudanças nas três fases da função atrial (Figura 1) são determinadas por fatores além do inotropismo e lusinotropismo intrínsecos do átrio esquerdo. A fase reservatória é modulada pela contração do ventrículo esquerdo, que é responsável pela descida da base cardíaca esquerda; pela pressão sistólica ventricular direita, que é transmitida para a circulação pulmonar; pelo relaxamento intrínseco do átrio esquerdo e pela complacência da câmara atrial (MATSUMOTO et al., 2014). A fase condutora é modulada pelo relaxamento do ventrículo esquerdo e pelo gradiente de pressão diastólico entre átrio esquerdo e ventrículo esquerdo. A fase de contração atrial é modulada pela complacência do ventrículo esquerdo e pela pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (pós-carga do átrio esquerdo), além da contratilidade intrínseca do AE. Adicionalmente, o aumento da pré-carga atrial por aumento de retorno venoso irá aumentar a função das três fases do AE (MATSUMOTO et al., 2014).

O índice de expansão atrial esquerdo (IEAE) é um parâmetro importante para avaliar a função do átrio esquerdo (AE) relacionada à sua capacidade de se expandir durante a sístole ventricular, enquanto atua como reservatório para

o retorno venoso pulmonar. Nesse contexto, o estudo de Genovese et al (2021) destacou o IEAE como um parâmetro ecocardiográfico promissor para estimar a pressão de oclusão da artéria pulmonar (POAP) de forma não invasiva. Avaliando 649 pacientes com doenças cardíacas crônicas, os autores encontraram uma correlação significativa entre o IEAE e a POAP ($r = -0,73$; $p < 0,001$), mostrando que menores valores de IEAE indicam pressões elevadas no átrio esquerdo e maior sobrecarga cardíaca, reforçando sua utilidade clínica para estimar a pressão de enchimento ventricular esquerdo de forma não invasiva.

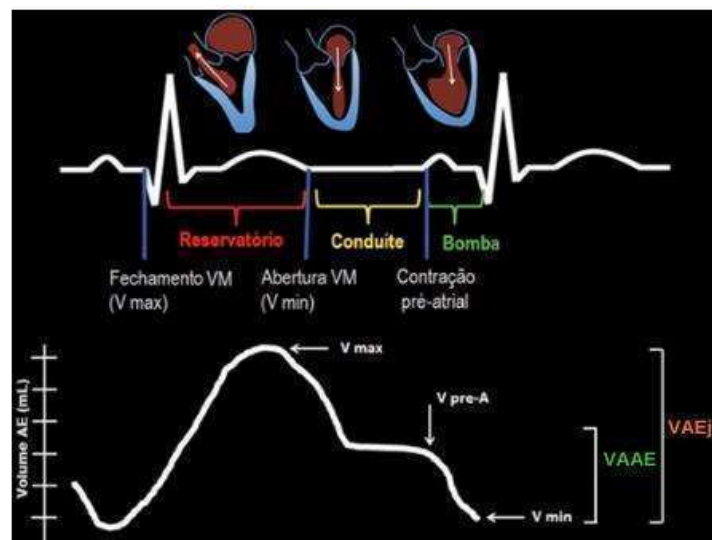


FIGURA 1 - Função reservatória, condutora e ativa do átrio esquerdo ao longo do ciclo cardíaco (parte superior), com curvas de volume correspondentes (parte inferior). O volume máximo (Vmax) ocorre no final da sístole, antes da abertura da válvula mitral; o volume mínimo (Vmin) no final da diástole, antes do fechamento da válvula mitral; e o volume antes da contração atrial (VpreA), antes da reabertura da válvula mitral, na onda P do ECG. O volume sistólico total atrial (VAEj) é $V_{max} - V_{min}$, enquanto o volume sistólico atrial ativo (VAAE) é $V_{preA} - V_{min}$, que representa a fase de bomba ativa do átrio esquerdo (Imagem adaptada de Kebed et al., 2019).

As alterações fisiopatológicas resultantes de doenças cardiovasculares impactam a função do átrio esquerdo de maneiras distintas. Na fase inicial da disfunção diastólica do ventrículo esquerdo, as funções de reservatório e bomba exercem um papel predominante no enchimento ventricular. No entanto, à medida que a pressão de enchimento ventricular aumenta e o padrão de enchimento se torna restritivo, o átrio esquerdo passa a atuar principalmente como conduto, levando a uma redução na contribuição das outras funções para o enchimento do ventrículo (MATSUMOTO et al., 2014).

O estudo da função do átrio esquerdo (FAE) tem relevância clínica em várias condições cardiovasculares. Na insuficiência cardíaca, a ecocardiografia bidimensional revelou que a capacidade física de pacientes com cardiomiopatia dilatada idiopática está intimamente relacionada à fração de esvaziamento do AE, indicando a importância dessa função para a avaliação prognóstica. Em pacientes com hipertensão arterial sistêmica, alterações nas funções de reservatório e condutor do AE podem ocorrer antes do desenvolvimento de hipertrofia ventricular. Na fibrilação atrial, a FAE é significativamente afetada, com a diminuição da função de reservatório sendo um preditor importante para o desenvolvimento de arritmias atriais. Além disso, em cardiomiopatias, a disfunção contrátil do AE não se limita à dilatação da cavidade, mas também está associada a mudanças estruturais, como fibrose, o que impacta a função atrial e sua relação com os sintomas de insuficiência cardíaca (MATSUMOTO et al., 2014).

A avaliação da função do AE pode ser realizada por diversas técnicas de imagem, sendo a ecocardiografia a mais recomendada devido à sua acessibilidade e capacidade de fornecer imagens em tempo real. A função do AE é avaliada utilizando análise volumétrica e Doppler espectral, além de análises de deformação, como *strain* e taxa de *strain*, que fornecem dados sobre a magnitude e taxa de deformação miocárdica (BLUME et al., 2011; MATSUMOTO et al., 2014).

O estudo de LeBlanc et al. (2016), envolvendo 40 cães saudáveis de diferentes raças e pesos, demonstrou que o método volumétrico bidimensional monopolar de discos (MOD), obtido pela visão apical esquerda em quatro câmaras (4C LAP), apresenta boa correlação com os volumes físicos atriais obtidos pelo método tridimensional (3D). Embora o MOD tenha superestimado os volumes na fase de conduíte ($p = 0,0012$), não houve diferença significativa nas fases de reservatório ($p = 0,1609$) e sistólica ($p = 0,5496$). Além disso, os volumes atriais obtidos pelo MOD e pelo método de área-comprimento (ALM), ambos na versão monopolar 4C LAP, foram semelhantes, sem diferença estatística significativa entre os métodos nas três fases do ciclo cardíaco. Apesar das limitações, o MOD é considerado adequado para o monitoramento longitudinal do Índice de Expansão do Átrio Esquerdo (IEAE) e da Fração de

Ejeção do Átrio Esquerdo (LAEF) em cães, especialmente quando o ecocardiograma tridimensional não está disponível.

A quantificação da deformação do átrio esquerdo (AE) é desafiadora devido à sua anatomia complexa, incluindo inserção de veias pulmonares, apêndice atrial, geometria variável e pequena espessura da parede. Ferramentas mais modernas, como a ecocardiografia de *speckle tracking* bidimensional (*strain*) e o método de Simpson monoplanar, têm sido utilizadas para avaliar a função atrial e minimizar essas limitações (COELHO et al., 2020).

O estudo de Coelho et al. (2020) avaliou a função atrial esquerda em 80 cães assintomáticos com doença mixomatosa valvar mitral (DMVM), divididos em três grupos conforme a gravidade da doença (Keene et al, 2019): Grupo 1 (estágio A), Grupo 2 (estágio B1) e Grupo 3 (estágio B2). Utilizando ecocardiografia bidimensional por rastreamento por *speckle* (2D-FTI) e o método de Simpson, foram analisadas as fases de reservatório, condução e contração atrial esquerda. Os resultados mostraram que os volumes máximos (Vol_max), mínimos (Vol_min) e na fase de pré-contração atrial (Vol_pa) foram significativamente maiores no grupo B2, indicando acúmulo progressivo de volume atrial à medida que a doença avança. Embora o *strain* de reservatório (StR) e o *strain* de condução (StCD) não tenham mostrado diferenças significativas entre os grupos, o *strain* de contração total (StCT) foi significativamente menor no estágio B2, sugerindo que essa variável pode estar relacionada não apenas à variação de pré-carga, mas também a alterações estruturais crônicas. A fração de ejeção atrial esquerda (FEAE) permaneceu inalterada, indicando menor influência da sobrecarga volêmica, enquanto o índice de *strain* na contração (CSI) apresentou redução progressiva, demonstrando sensibilidade tanto à pré-carga quanto ao remodelamento atrial.

O CSI é calculado a partir da relação entre o *strain* atrial na fase reservatória e no início da contração atrial, refletindo diretamente a função contrátil ativa do átrio esquerdo. Esse índice mostrou-se útil na detecção precoce da disfunção atrial, sendo capaz de identificar alterações hemodinâmicas desde os estágios iniciais da DMVM, reforçando a importância de considerar a influência da sobrecarga volêmica na interpretação ecocardiográfica das variáveis atriais.

Em contraste com o estudo de Coelho et al. (2020), que avaliou diferentes raças, o estudo de Savarino et al. (2024) focou em cães Cavalier King Charles Spaniel em diferentes estágios da DMVM (estágios A, B1, B2, C/D conforme Keene et al., 2019) utilizando o método de área-comprimento monoplanar. Os volumes máximos (Vol_max), mínimos (Vol_min) e pré-contração atrial (Vol_pa) do AE foram normalizados pelo peso corporal (ml/kg) e analisados em conjunto com o índice de expansão atrial esquerda (IEAE). Os resultados demonstraram que os volumes máximos, mínimos e pré-contração atrial foram significativamente maiores em todos os estágios da doença, com aumento progressivo conforme o avanço da DMVM. Esse aumento volumétrico foi mais evidente nos cães classificados como estágio B1 em comparação aos saudáveis, sugerindo que o método volumétrico é mais sensível na detecção precoce do aumento do AE em relação aos métodos lineares tradicionais. Esse remodelamento atrial precoce, mesmo em indivíduos assintomáticos, foi associado a um aumento compensatório da função ativa do AE (FAAE), provavelmente decorrente do mecanismo de Frank-Starling. Além disso, o IEAE foi significativamente maior nos cães do estágio B1 em comparação aos saudáveis, indicando uma expansão atrial compensatória diante do aumento da carga hemodinâmica. Entretanto, a redução significativa do IEAE observada em cães sintomáticos (ACVIM C/D) sugere perda da capacidade do AE de se expandir adequadamente, caracterizando disfunção atrial severa e comprometimento hemodinâmico.

O estudo de Osuga et al. (2015) avaliou os efeitos de diferentes fármacos cardiovasculares na função fásica do átrio esquerdo em cães saudáveis anestesiados com propofol, utilizando ecocardiografia por rastreamento *speckle* bidimensional (2-D). Nove cães da raça Beagle foram submetidos a infusões de dobutamina, esmolol, milrinona e fenilefrina. Os resultados mostraram que a dobutamina aumentou significativamente as áreas de esvaziamento total e ativo do átrio esquerdo, enquanto o esmolol reduziu a contratilidade ventricular sem alterar a função fásica atrial. A milrinona aumentou a contratilidade ventricular sem impactar o átrio esquerdo, e a fenilefrina, embora aumentasse a pressão arterial, não teve efeito significativo sobre a função fásica atrial. O estudo concluiu que os índices de função fásica do átrio esquerdo são relativamente

estáveis e não refletem diretamente as mudanças na função ventricular induzidas pelos fármacos (OSUGA et al., 2015).

A relação entre a pré-carga e a função atrial esquerda ainda não está completamente elucidada e estudos em humanos têm investigado como diferentes manobras que modificam o retorno venoso influenciam os parâmetros ecocardiográficos. Gottfridsson et al. (2022) avaliaram essa resposta em indivíduos saudáveis submetidos à pressão positiva contínua nas vias aéreas (CPAP), para reduzir o retorno venoso, e à elevação passiva das pernas (PLR) a 15°, para aumentar a pré-carga. O uso do CPAP resultou na redução do *strain* de reservatório (StR), da onda E e do VTI, sugerindo que esses parâmetros são sensíveis a reduções na pré-carga, sem causar alterações significativas no *strain* de contração atrial (StCT) e na onda A. Por outro lado, a PLR promoveu um aumento no StR e VTI, mantendo StCT, onda E e onda A estatisticamente inalterados. Esses achados indicam que diferentes componentes da mecânica atrial podem responder de maneira distinta às variações de pré-carga, o que tem implicações importantes na interpretação ecocardiográfica em diferentes cenários volêmicos (GOTTFRIDSSON et al., 2022).

O estudo de Oliveira et al. (2021) avaliou a utilização de índices de fluxo aórtico derivados de ecocardiografia transtorácica para prever a resposta ao desafio de volume em cães anestesiados com isoflurano. Foram comparados 48 cães divididos em respondedores e não respondedores, com base no aumento de 15% no volume sistólico medido por termodiluição transpulmonar (TPTD), após infusão rápida de Ringer Lactato. Entre os parâmetros analisados, a integral de tempo de velocidade (VTI) apresentou maior acurácia (AUROC = 0,901) em discriminar os respondedores, superando a aceleração máxima (Vmax) (AUROC = 0,774) (de OLIVEIRA et al., 2021).

Outro estudo de Genovese et al. (2018) investigou a dependência da pré-carga no *strain* atrial esquerdo em indivíduos saudáveis submetidos ao *tilt test*, uma manobra que reduz progressivamente o retorno venoso (Figura 2). A pesquisa envolveu 25 voluntários, monitorados por ecocardiografia 2D e 3D durante inclinações de 0°, 40° e 80°, permitindo a avaliação dos volumes atriais máximos, mínimos e pré-contração atrial, além dos componentes do *strain* (reservatório, condutor e bomba). Os resultados demonstraram que tanto os

volumes atriais máximo, mínimo e pré-A, quanto os valores de *strain*, diminuíram significativamente com a redução da pré-carga. O *strain* de reservatório apresentou dependência da carga, mas em menor intensidade do que o volume atrial máximo, o que pode representar uma vantagem clínica. Além disso, houve uma redução das ondas E e A em todas as inclinações, indicando que a diminuição da pré-carga afeta não apenas os volumes atriais, mas também os parâmetros de enchimento ventricular. Um achado relevante foi que o volume mínimo do átrio esquerdo (Vol_min) na inclinação de 40° não apresentou diferença estatística significativa em relação ao valor antes da manobra ($p = 0,11$), enquanto uma inclinação maior (80°) foi necessária para reduzi-lo significativamente ($p < 0,001$), sugerindo que a influência sobre o Vol_min exige uma redução de carga mais acentuada.

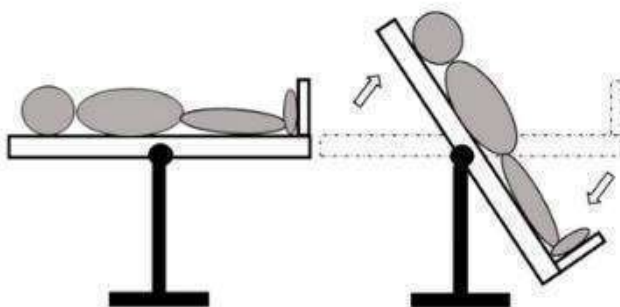


FIGURA 2 - Ilustração da manobra “tilt test” de inclinação corporal controlada (Adaptado de GALIZIA e ABETE, 2022).

O grupo de Paranjape et al. (2019) avaliou a responsividade a fluidos em estados de hipovolemia por meio da elevação passiva dos membros pélvicos (EPMP) a 15°. Para isso, seis porcos saudáveis foram submetidos a cinco estágios experimentais, variando de normovolemia a hipovolemia severa (com reduções de 20% e 40% do volume sanguíneo), seguidos pela reinfusão de sangue e administração de coloides para estado hipervolêmico (Figura 3). Durante o estudo, as variáveis hemodinâmicas foram registradas em três momentos distintos: antes da EPMP, três minutos após sua aplicação e um minuto após o retorno dos membros à posição original. Os resultados mostraram que a EPMP a 15° foi um teste eficaz para prever a responsividade a fluidos, promovendo um aumento significativo do débito cardíaco e uma redução do índice de variabilidade pletismográfica (PVI) e da variação da pressão de pulso

(PPV), sugerindo seu potencial como ferramenta útil na avaliação da responsividade à fluidoterapia em pacientes hemodinamicamente instáveis.

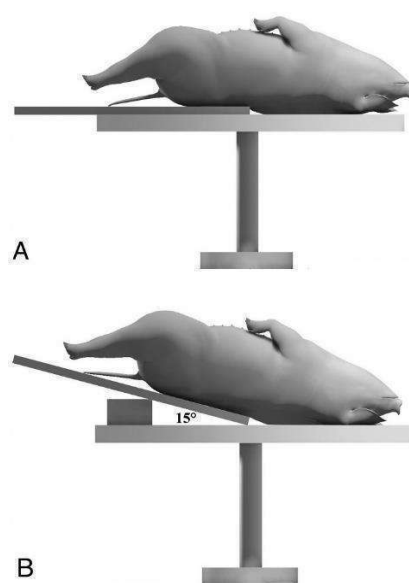


FIGURA 3 - Posicionamento da prancha de madeira antes e durante a elevação passiva dos membros pélvicos (EPMP) em porcos Landrace nos estados de normovolemia, hipovolemia e hipervolemia. Posições antes (A) e durante (B) uma EPMP utilizada para avaliar a responsividade a fluidos em seis porcos Landrace machos saudáveis durante estados de normovolemia, hipovolemia e hipervolemia. *EPMP: elevação passiva de pernas modificada* (PARANJAPE et al., 2019).

Outro estudo de Paranjape et al. (2023a, 2023b) investigou a resposta hemodinâmica à EPMP (Figura 4) em seis cães Beagle machos saudáveis, anestesiados e ventilados mecanicamente, submetidos a quatro fases experimentais de manipulação volêmica (normovolemia inicial, hipovolemia com remoção de 27 mL/kg de sangue, normovolemia restaurada por auto-hemotransfusão e hipervolemia induzida por coloide HES). O débito cardíaco (DC) foi monitorado por Doppler esofágico (DEDC) e ecocardiografia transesofágica (ETEDC). A EPMP foi aplicada por 5 minutos com elevação dos membros pélvicos a 30°. Durante a hipovolemia, a EPMP resultou em um aumento significativo no DC (aproximadamente, 39% pelo ETEDC, $p < 0,001$), além de uma redução no PPV e PVI, indicando melhora na perfusão periférica. No entanto, em cães normovolêmicos ou hipervolêmicos, a EPMP não provocou alterações significativas nos parâmetros hemodinâmicos, sugerindo que sua eficácia se restringe a estados de hipovolemia. Esses achados reforçam o uso

da EPMP como uma ferramenta útil para prever a responsividade a fluidos, permitindo uma avaliação não invasiva da estabilidade hemodinâmica e evitando a administração desnecessária de fluidoterapia.

Se o ventrículo direito é responsivo ao aumento da pré-carga, a manobra de elevação dos membros pélvicos resultará no incremento do débito cardíaco direito, do enchimento do ventrículo esquerdo e, conseqüentemente, no aumento do débito esquerdo. Esse volume auto transfundido pode chegar a 150 a 300 mL (PARANJAPE et al., 2023a). A EPMP (Figura 4) tem a vantagem de ser completamente reversível, bastando reposicionar os membros na posição horizontal. Isso permite prever a resposta ao volume de maneira segura, sem risco de sobrecarga hídrica. Outra vantagem é que não depende da análise de variação de débito com a respiração, sendo aplicável em pacientes que respiram espontaneamente. Além disso, a manobra também pode ser eficaz em pacientes que apresentam arritmias (ALVARADO-SÁNCHEZ, 2015).

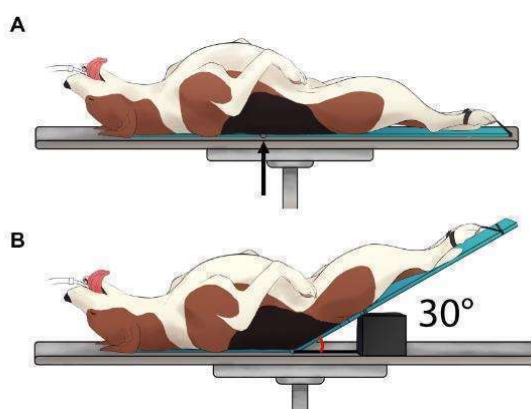


FIGURA 4 - Representação visual da manobra EPMP que foi realizada em seis cães saudáveis e anestesiados (PARANJAPE et al., 2023a). EPMP: elevação passiva de membros pélvicos.

A ultrassonografia abdominal para avaliar o diâmetro e a distensibilidade da veia cava caudal já é amplamente utilizada nos cuidados intensivos de pequenos animais para pesquisar responsividade a fluido ou presença de hipovolemia (MARSHALL et al., 2018; CAMBOURNAC et al., 2018; ORICCO et al., 2019).

Marshall et al. (2018) avaliaram o diâmetro da veia cava caudal (DCdVC) em nove cães Greyhound, comparando as medições antes e após a doação de

aproximadamente 8% do volume sanguíneo total. Utilizando ultrassonografia, os diâmetros máximos e mínimos da DCdVC foram medidos, juntamente com o diâmetro da aorta (AoD) e o índice de colapsabilidade da DCdVC. Embora os resultados tenham mostrado reduções significativas nos diâmetros da DCdVC e aumento no índice de colapsabilidade ($p = 0,049$), essas alterações foram pequenas e clinicamente indistinguíveis, sugerindo que a DCdVC pode não ser um marcador confiável para hipovolemia leve em cães (MARSHALL et al., 2018).

Dragoumanos et al. (2012) avaliaram o efeito da EPMP durante a reanimação cardiopulmonar (RCP) em porcos com fibrilação ventricular. O grupo submetido à EPMP apresentou aumento significativo na pressão de perfusão coronariana em comparação ao grupo controle ($22,8 \pm 9,5$ mmHg vs. $10,6 \pm 6,5$ mmHg, $p < 0,004$), embora as taxas de retorno da circulação espontânea (ROSC) e de sobrevivência em 24 horas tenham sido semelhantes. No entanto, os animais do grupo EPMP tiveram uma melhora significativa no desfecho neurológico. A EPMP mostrou-se eficaz em otimizar a hemodinâmica durante a RCP, sugerindo ser uma estratégia simples e vantajosa para melhorar o prognóstico neurológico.

Diversos parâmetros dinâmicos de responsividade a fluidos foram identificados em diferentes cenários clínicos, especialmente em pacientes sob ventilação mecânica (BOYSEN e GOMMEREN, 2021; DE OLIVEIRA et al., 2021; MA et al., 2023). A maioria desses parâmetros baseia-se na quantificação da variabilidade ao longo do ciclo respiratório (Quadro 2). Entretanto, os dados que sustentam a aplicação desses parâmetros em pacientes acordados e respirando espontaneamente ainda são limitados (MA et al., 2023).

Ainda existem dúvidas se os cães doadores de sangue são um bom modelo para estudar hemorragia aguda, uma vez que se suspeita que apresentem uma contração esplênica mais rápida e intensa do que os humanos. Isso pode resultar em uma recuperação mais rápida da contagem de células sanguíneas. Portanto, é necessário realizar mais investigações com esses animais para compreender melhor essa diferença (CRUZ JR et al., 2011; MARSHALL et al., 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Avaliar a influência de redução aguda da pré-carga (volemia) na função atrial esquerda em cães saudáveis, doadores de sangue e o uso da manobra de EPMP nesta espécie.

3.2 Objetivos específicos

Os objetivos deste estudo são esclarecer quais medidas ecocardiográficas, sejam volumétricas, de deformidade miocárdica ou doppler, são menos dependentes da variação de pré-carga. Além disso, busca-se avaliar se cães doadores de sangue podem ser utilizados como modelo experimental para simulação de hipovolemia aguda, por meio da análise de variáveis hemodinâmicas obtidas por ecocardiografia transtorácica. Por fim, pretende-se avaliar a utilidade da manobra de elevação passiva dos membros pélvicos (EPMP) como possível ferramenta a ser incorporada à prática da terapia intensiva veterinária.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Este estudo prospectivo, experimental e observacional foi conduzido segundo as normas de bem-estar animal, após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP – FMVZ – Botucatu (protocolo 0360/2023) e após o consentimento livre esclarecido por escrito dos tutores.

4.2 POPULAÇÃO ESTUDADA

4.2.1 RECRUTAMENTO DOS ANIMAIS

O estudo foi realizado em parceria com o hemocentro veterinário Vetex Laboratório Veterinário, São Paulo/SP. As doações de sangue já estavam

programadas e seriam uma forma de provocar uma perda aguda de volume sanguíneo (redução de pré-carga). O procedimento de doação de sangue, previamente programado, foi aproveitado nesta investigação para avaliar a resposta hemodinâmica por ecocardiografia transtorácica frente à variação da pré-carga em animais saudáveis. Dessa forma, não foi necessária a indução de hipovolemia exclusivamente para o estudo, alinhando-se aos princípios dos 3Rs (Trez, 2018).

4.2.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

O hemocentro realizou o agendamento das coletas, com no mínimo 60 dias de intervalo entre elas e também incluiu, no dia da coleta, um exame físico de todos os animais para verificar os aptos a serem doadores. A cópia digital da carteira de vacinação foi previamente encaminhada ao hemocentro antes do agendamento. Na sequência, amostras de sangue foram coletadas a cada doação para atestar a saúde dos doadores. Esses exames incluíram: hemograma completo, dosagem de ureia, creatinina e ALT, além da pesquisa para doenças infecciosas transmitidas por sangue ou hemoderivados (Método molecular – PCR Real Time para Babesiose, Anaplasmoses, Erlichiose, Leishmaniose, Dirofilariose e Brucelose). O exame coproparasitológico do doador foi realizado bimestralmente. Os animais foram pesados na coleta dos exames pré-doença e a pesagem confirmada no dia da doação. Apenas cães com peso corporal igual ou superior a 20 kg foram incluídos no estudo. O volume de sangue coletado foi calculado individualmente com base no peso de cada animal, respeitando o limite de até 20 mL/kg recomendado para doadores caninos.

Os doadores não apresentavam doenças pré-existent, não faziam uso de medicamentos, não haviam sido submetidos a cirurgias recentes (≤ 30 dias) e não estavam gestantes ou lactantes. Fêmeas eram elegíveis ≥ 45 dias após a lactação e não poderiam ter recebido transfusão sanguínea previamente. As coletas de sangue foram agendadas com intervalo mínimo de 60 dias.

4.2.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos animais com cardiopatias congênitas ou insuficiências valvares, exceto refluxos valvares triviais sem alteração estrutural, além de exames com imagens de baixa qualidade. Além de quaisquer itens que não estivessem alinhados com os critérios de inclusão previamente descritos.

4.2.4 AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA

Os dados hemodinâmicos foram obtidos por ecocardiograma transtorácico com equipamento *GE Vivid IQ premium*, eletrodo de eletrocardiograma próprio do equipamento, acoplado simultaneamente e transdutor setorial GE M5S-D Cardíaco. As imagens foram armazenadas e analisadas por pós-processamento pelo software *EchoPAC™ Software Only / EchoPAC Plug-in, Versão 204*, que oferece ferramentas avançadas de imagem, como *strain* de átrio esquerdo, para uma avaliação detalhada da função cardíaca.

Neste estudo foi adotada uma abordagem modificada da elevação passiva das pernas (EPMP), elevando os membros pélvicos e o abdome caudal em um ângulo de, aproximadamente, 35 graus, semelhante a estudos anteriores (Figura 5) (PARANJAPE et al., 2023a, 2023b; PARANJAPE et al, 2019). No entanto, ao contrário desses, optou-se pelo decúbito lateral esquerdo para melhor aquisição das imagens ecocardiográficas em 4 e 5 câmaras apical e o tempo de aquisição das medidas pós-elevação foi mais curto, pois os pacientes estavam acordados. E para elevar os membros usou-se um encosto terapêutico triangular que permite a inclinação entre 30° a 35° com conforto para os animais (Figura 5).

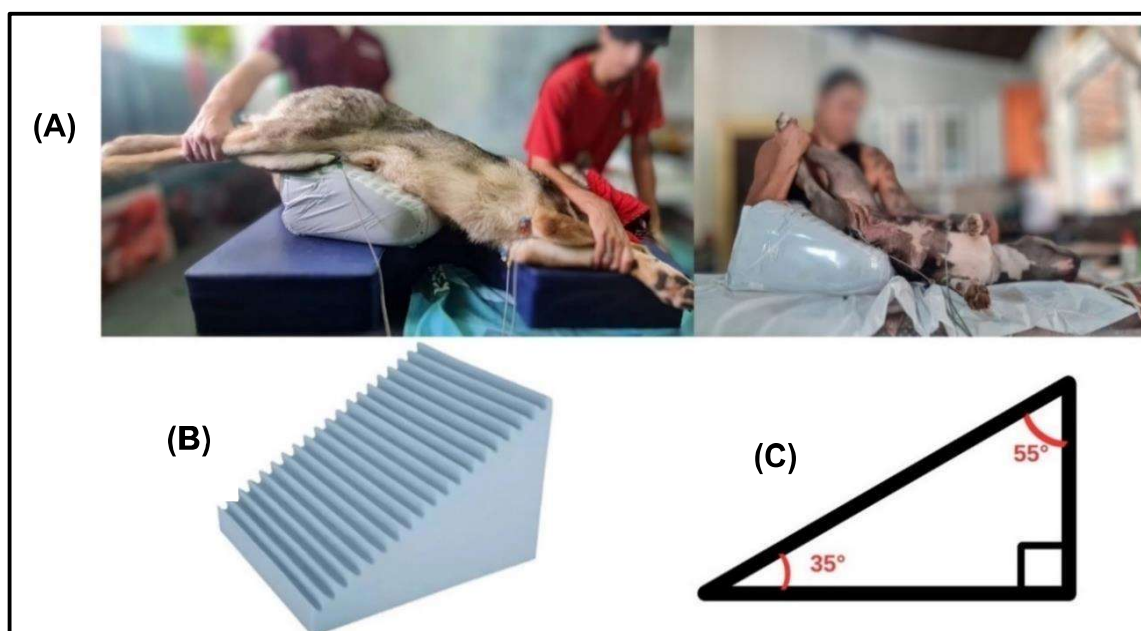


FIGURA 5 - Imagens ilustrando a manobra de elevação passiva dos membros pélvicos (EPMP) e o uso da almofada ortopédica para garantir o conforto do paciente no presente estudo. As imagens superiores (A) mostram o animal posicionado com contenção suave pelo tutor durante a aquisição de imagens no T2, correspondente à EPMP. As imagens inferiores (B) apresentam a almofada ortopédica em formato de triângulo retângulo, com um ângulo de 35°. Ao lado da almofada (C) há um diagrama esquemático de um triângulo retângulo que ilustra os ângulos, garantindo a elevação adequada dos membros pélvicos sem comprometer o conforto do animal.

As variáveis ecocardiográficas foram mensuradas em três momentos do estudo: imediatamente antes da doação de sangue (T0), imediatamente após a doação (T1) e um minuto após a manobra (T2), com a aquisição das imagens em T2 realizada com o animal ainda na posição de elevação passiva dos membros pélvicos. Foram obtidos os volumes máximo, mínimo e pré-contração atrial do átrio esquerdo, com cada medida repetida três vezes em cada tempo, bem como os volumes ejetados pelo AE, derivados dos volumes de cada fase mencionada (Figura 6 e Quadro 1). Os volumes foram normalizados pelo peso corporal do animal para garantir a padronização das análises.

Além disso, a função fásica do AE foi analisada por três métodos: bidimensional volumétrico (método de discos monoplanar) e *strain* (2D - *speckle tracking*), sendo este último também repetido três vezes em cada fase e em cada tempo.

Ainda, foram comparadas entre os três tempos as velocidades do fluxo transmitral (onda E e onda A), ambas repetidas três vezes em cada tempo. Os valores de pico da velocidade do fluxo aórtico máximo (Vel_max) e mínimo (Vel_min) foram determinados a partir das medidas máximas e mínimas obtidas

em sequências de, no mínimo, cinco batimentos consecutivos. O VTI aórtico (integral velocidade-tempo do fluxo aórtico), que representa a distância percorrida pelo sangue na aorta durante um ciclo cardíaco, também foi analisado seguindo o mesmo critério de seleção das medidas. Todas as aquisições e medições foram realizadas por um único examinador. O Quadro 1 apresenta todas as medidas armazenadas e as correlaciona com as janelas e cortes necessários para a aquisição.

QUADRO 1 - Medidas ecocardiográficas armazenadas para pós processamento.

Medidas	Janela e cortes das imagens
	<i>Volumétricas</i>
Vol_max, Vol_min, Vol_pa	JP esquerda, DLE, corte apical esquerdo 4 e 2 câmaras
	<i>Strain</i>
StR, StCD, StCT	JP esquerda, corte apical esquerdo 4 câmaras
	<i>Doppler</i>
Onda E, onda A	JP esquerda, corte apical esquerdo 4 câmaras
Vel_Max, Vel_Min, VTI_MAXmin,	JP esquerda, corte apical esquerdo 5 câmaras

Abreviaturas: Vol_max = volume atrial esquerdo máximo; Vol_min = volume atrial esquerdo mínimo; Vol_pa = volume atrial esquerdo logo após onda P do eletrocardiograma; StR = *strain* da fase reservatório; StCD = *strain* da fase condutora; StCT = *strain* da fase bomba (ativa); Vel_Max = velocidade máxima do fluxo aórtico; Vel_Min = velocidade mínima do fluxo aórtico; VTI_MAX = Integral Velocidade-Tempo do maior fluxo aórtico; VTI_MIN = Integral Velocidade-Tempo do menor fluxo aórtico; DLE = decúbito lateral esquerdo; JP = janela parasternal.

4.2.4.1 MÉTODO VOLUMÉTRICO

O corte apical de quatro e cinco câmaras foi obtido pela janela paraesternal esquerda, com o cão em decúbito lateral esquerdo, para a aquisição das imagens utilizadas no cálculo volumétrico. Tais medidas foram úteis para o cálculo da função fásica e fração de ejeção do átrio esquerdo (FIGURA 6 e Quadro 2).

Para garantir a acurácia e reprodutibilidade das medições, foram selecionadas imagens com adequada definição da borda endocárdica, obtidas em ritmo sinusal e com visualização íntegra do septo interatrial. Ainda, teve-se o cuidado de não incluir as veias pulmonares nas medições do volume atrial, excluindo-as cuidadosamente da área delimitada (FIGURA 6).



FIGURA 6 - Determinação do volume atrial esquerdo (AE) a partir da corte apical quatro câmaras utilizando o método de discos monoplanar (esquerda). O contorno de AE é traçado ao longo do limite interno da parede atrial, excluindo a confluência das veias pulmonares e do apêndice de AE. Vol_max = volume máximo de AE (sístole ventricular ao final da onda T do eletrocardiograma); Vol_min = volume mínimo de AE (próximo ao final de intervalo PR); Vol_pa = volume de AE próximo ao final da onda P indicando início da fase ativa). *Imagens de acervo pessoal*.

4.2.4.2 MÉTODO STRAIN

A deformação miocárdica atrial foi avaliada pela técnica de *speckle-tracking* bidimensional (2D-STE) com pós processamento pelo software customizado (EchoPAC, General Electric, Versão 204).

O endocárdio de AE foi traçado manualmente ao final da sístole e o software rastreou automaticamente o miocárdio por todo o ciclo cardíaco, entre intervalos R-R. A espessura do miocárdio ou região de interesse (ROI) foi ajustada para a menor espessura, seguindo as bordas (Figura 7). O miocárdio do AE foi dividido em seis segmentos (basal, medial e segmentos apicais) no corte 4 câmaras. A Figura 7 mostrou a curva de *strain* de todo o ciclo cardíaco.

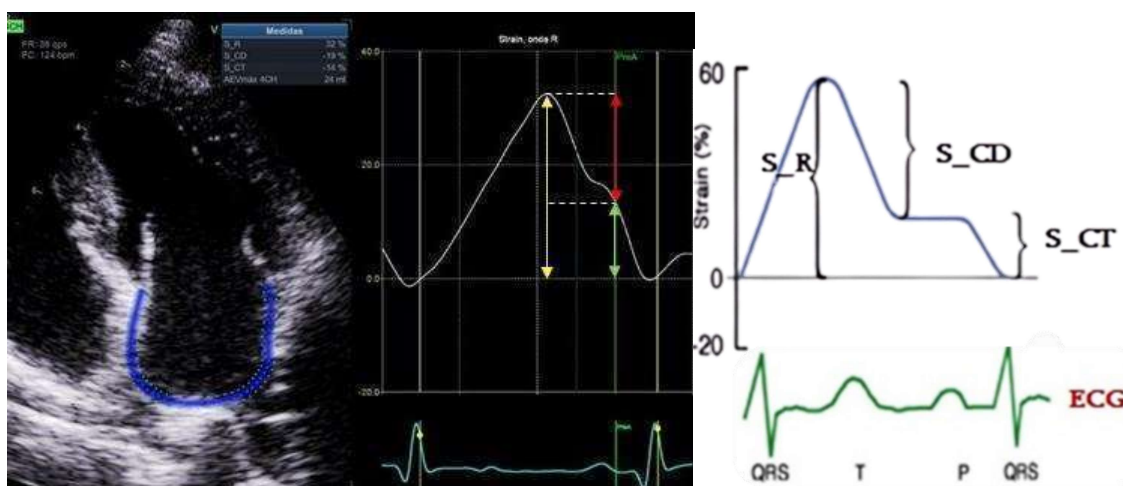


FIGURA 7 - Visão ecocardiográfica apical de quatro câmaras, destacando a região de interesse (ROI) ajustada e a curva de *strain* correspondente (à esquerda – imagem de acervo pessoal), com o ponto de referência posicionado no início da onda R do ECG. À direita, a ilustração apresenta a curva de deformação do átrio esquerdo, demonstrando as fases do *strain* em relação ao ECG. A função condutora é definida como a diferença entre S_R e S_CT. Imagem adaptada de GAN et al., 2020. Abreviações: ECG = eletrocardiograma; S_R = *strain* da fase reservatório; S_CD = *strain* da fase condutora; S_CT = *strain* da fase bomba (contração atrial).

A análise do *strain* atrial esquerdo considerou suas três fases funcionais: reservatória, condutora e contrátil (Figura 7). Durante a fase reservatória, correspondendo à sístole ventricular, o AE se distende progressivamente, acumulando sangue proveniente das veias pulmonares. Esse alongamento gerou uma curva positiva de *strain* (StR), que atingiu seu pico no ápice da onda R do eletrocardiograma (ECG), imediatamente antes da abertura da valva mitral.

Com a abertura da valva mitral e o início do enchimento ventricular passivo, o AE atuou como um conduto, transferindo sangue para o ventrículo esquerdo. Esse processo levou à redução do *strain* atrial, resultando em uma deflexão descendente da curva, com valores negativos relativos, registrados como *strain* da fase condutora (StCD).

Na fase de bomba ativa, correspondente à sístole atrial, ocorreu uma segunda deflexão negativa relativa, associada à contração ativa do AE, caracterizando o *strain* da fase contrátil (StCT). O StCT foi medido na sequência da onda P do eletrocardiograma. O StR foi mensurado no pico positivo do *strain* atrial o StCD e calculado como a diferença entre StR e StCT. E o StCT foi determinado após a onda P do ECG, refletindo a deformação do AE durante sua contração ativa (VAN GROOTEL et al., 2018; HOIT, 2018).

Para garantir a qualidade do rastreamento, selecionaram-se ciclos em ritmo sinusal com boa definição da borda endocárdica e do septo interatrial. O

contorno do AE foi traçado manualmente ponto a ponto, sem aceitação do rastreamento automático do software. A região de interesse (ROI) foi ajustada à menor espessura compatível com a parede atrial, excluindo cuidadosamente as veias pulmonares, a fim de assegurar a precisão da análise da deformação atrial.

4.2.4.3 MÉTODO DOPPLER PULSADO

As imagens do fluxo transmitral (onda E e onda A) e fluxo aórtico foram adquiridas em decúbito lateral esquerdo pelos cortes quatro e cinco câmaras apical (Figura 8). Com essas medidas, foram também comparadas entre os momentos T0, T1 e T2 as velocidades do fluxo transmitral (onda E e onda A), o fluxo aórtico, e a variabilidade do fluxo aórtico, utilizando a velocidade máxima e a integral do tempo da velocidade (VTI).

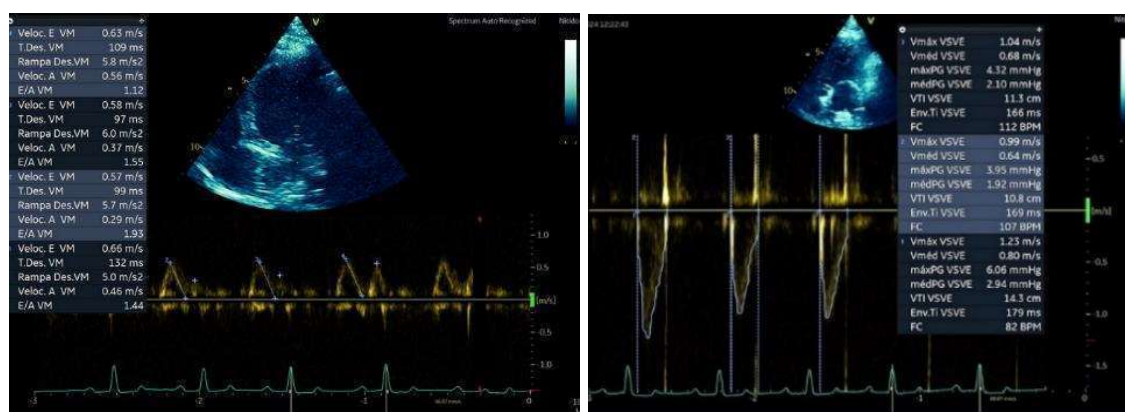


FIGURA 8 - Fluxos doppler transmitrais e aórticos. Corte quatro câmaras apical a esquerda, para fluxo transmitral mostrando as medidas das velocidades do pico da onda E e pico da onda A (acima) e corte cinco câmaras apical para fluxo aórtico mostrando as medidas das velocidades do fluxo aórtico e o VTI (Velocity-Time Integral) abaixo. Imagem do acervo pessoal.

4.2.5 DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

A normalidade dos dados foi avaliada por meio do teste de Shapiro-Wilk. Para as variáveis quantitativas e qualitativas ordinais, foram calculadas estatísticas descritivas, incluindo média, desvio-padrão, valores mínimo e máximo, quartis e mediana. As variáveis qualitativas nominais foram expressas em porcentagens e, quando aplicável, as comparações múltiplas foram realizadas pelo teste de Friedman. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Estes dados foram estatisticamente analisados para determinar a influência da redução da pré-carga na função fásica atrial esquerda e,

paralelamente, verificar se, a velocidade da aorta e VTI da aorta forneceram informações semelhantes sobre a hipovolemia.

Todas as medidas ecocardiográficas foram comparadas entre os momentos T0 e T1 para avaliar a influência da redução aguda de pré-carga nas variáveis ecocardiográficas e a viabilidade do uso de cães doadores de sangue como modelo experimental para estudo hemodinâmico não invasivo em cães acordados. Assim, a comparação entre T0 e T1 permitiu verificar se as variáveis foram afetadas imediatamente após a doação de sangue, enquanto a análise entre T1 e T2 buscou determinar se a manobra foi capaz de restaurar o volume sanguíneo por meio do aumento da pré-carga.

As fórmulas que foram usadas para avaliar tanto a função do AE quanto as medidas e variabilidades adquiridas pelo modo doppler do ETT encontram-se nos quadros 2 e 3.

QUADRO 2 – Fórmulas das variáveis referentes à função atrial esquerda pelo método volumétrico.

Função do átrio esquerdo	Fórmula
Função de reservatório	
Volume total de esvaziamento (VAEj)	$\text{Vol_max} - \text{Vol_min}$
Fração total de esvaziamento (FEAE)	$(\text{Vol_max} - \text{Vol_min}) \times 100 / \text{Vol_max}$
Índice de expansão atrial volumétrico (IEAE)	$(\text{Vol_max} - \text{Vol_min}) / \text{Vol_min}$
Função de condutor	
Volume de esvaziamento passivo (VPAE)	$\text{Vol_max} - \text{Vol_pa}$
Fração de esvaziamento passivo (FPAE)	$(\text{Vol_max} - \text{Vol_pa}) \times 100 / \text{Vol_max}$
Função de Bomba	
Volume de esvaziamento ativo (VAAE)	$\text{Vol_pa} - \text{Vol_min}$
Fração de esvaziamento ativo (FAAE)	$(\text{Vol_pa} - \text{Vol_min}) \times 100 / \text{Vol_pa}$

Abreviações: *Vol_max* = volume máximo do átrio esquerdo; *Vol_min* = volume mínimo do átrio esquerdo; *Vol_pa* = volume atrial esquerdo ao final da onda P do eletrocardiograma.

QUADRO 3 - Fórmulas referentes ao fluxo aórtico.

Variável	Fórmula
ΔVel (%)	$(\text{Vel_max} - \text{Vel_min}) \times 100 / (\text{Média de Vel_max e Vel_min})$
ΔVTI (%)	$(\text{VTI_MAX} - \text{VTI_MIN}) \times 100 / (\text{Média de VTI_MAX e VTI_MIN})$

Abreviações: ΔVel = variabilidade de fluxo aórtico; ΔVTI = variabilidade de VTI aórtico; *Vel_max* = velocidade máxima de fluxo aórtico; *Vel_min* = velocidade mínima de fluxo aórtico; *VTI_MAX* = Integral Velocidade-Tempo do maior fluxo aórtico; *VTI_MIN* = Integral Velocidade-Tempo do menor fluxo aórtico; *Média* = média simples.

A análise da curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) foi aplicada às variáveis Vel_max e VTI_MAX para avaliar sua capacidade de discriminar respondedores à manobra (EPMP). O critério de resposta foi definido como um aumento superior a 15% para respondedores e $\leq 15\%$ para não respondedores, conforme a fórmula: $(\text{Vel_max T2} - \text{Vel_max T1}) / \text{Vel_max T1}$. A mesma fórmula foi aplicada à VTI_max para cálculo da variação percentual entre T1 e T2. A sensibilidade e especificidade foram analisadas em diferentes pontos de corte, buscando um equilíbrio entre a identificação correta dos respondedores e a redução de falsos positivos. Os resultados deste estudo foram obtidos por meio do teste estatístico de friedmann, adequado para comparar medições repetidas de dados não paramétricos, como aquelas realizadas em diferentes momentos (T0, T1 e T2).

Por fim, a variabilidade intraobservador das medidas ecocardiográficas foi avaliada por meio de análises intradia e interdia, utilizando-se o coeficiente de variação (CV) calculado exclusivamente para as variáveis obtidas diretamente das imagens. As análises foram realizadas em 7 cães, correspondendo a cerca de 30% da amostra, conforme a metodologia descrita previamente (DECLOEDT et al., 2011). Os valores de cv foram classificados como indicativos de variabilidade baixa ($<15\%$), moderada (15–25%) ou alta ($>25\%$).

5 RESULTADOS

As análises descritivas que caracterizam a população do estudo (Anexo A) assim como as variáveis ecocardiográficas e as comparações entre os tempos T0, T1 e T2 estão apresentadas nas Tabelas 2 a 5.

As características populacionais, incluindo raça, peso e idade dos cães, estão apresentadas na Tabela 1. Esses dados fornecem uma visão geral da distribuição demográfica da amostra, permitindo uma melhor contextualização dos resultados.

Dada a heterogeneidade no peso dos cães, foi estabelecido um subgrupo composto apenas por aqueles que doaram pelo menos 10 mL/kg de sangue, com o objetivo de investigar se essa variação influenciaria a significância estatística de alguma das variáveis analisadas. A análise descritiva desse subgrupo encontra-se no Anexo B.

A média do peso da bolsa de sangue coletada foi de $401,81 \pm 100,23$ g, com valores variando entre 178 g e 566 g. Convertendo para volume, considerando a densidade do sangue (1,06 g/mL), obteve-se uma média de $379,06 \pm 94,55$ mL, com um intervalo interquartil de 315,57 mL a 468,63 mL.

O volume de sangue retirado relativo ao peso corporal apresentou uma média de $11,36 \pm 3,23$ mL/kg, variando entre 5,54 e 18,23 mL/kg. O intervalo interquartil foi de 8,77 a 13,96 mL/kg, com mediana de 11,23 mL/kg, indicando que a coleta respeitou os limites de segurança recomendados para doadores caninos.

TABELA 1 - Características demográficas e de peso dos cães (n=26) avaliados no estudo.

Raça	Sexo	Idade (anos)	Peso (Kg)
American bully	macho	7	28
American bully	fêmea	3	29,8
American bully	macho	3	40
American bully	fêmea	6	29
American bully	fêmea	6	35,6
American bully	fêmea	1,5	26
American bully	Macho	2	22,6
Basset Hound	Macho	1,5	33
Dálmata	fêmea	4	21
Dog alemão	macho	2	55
Golden retriever	macho	6	56
Golden retriever	macho	6	50
Golden retriever	fêmea	2,6	45
Golden retriever	fêmea	4	25
Golden retriever	fêmea	6	33
Golden retriever	macho	2	38
Labrador retriever	macho	3	49
Labrador retriever	fêmea	1,8	42
Pastor alemão	fêmea	6	41
American Pit Bull Terrier	fêmea	4	29,7
American Pit Bull Terrier	fêmea	4	26
American Pit Bull Terrier	macho	5	36
American Pit Bull Terrier	macho	6	26,6
SRD	fêmea	5,5	30,3
SRD	macho	3	26,9
SRD	macho	2	32
	Média	3,95	34,86
	Mediana	4,0	32,5
	DP	1,74	9,81

Legenda: DP = desvio padrão

A análise da população total demonstrou reduções significativas em diversas variáveis ecocardiográficas após a doação de sangue ($p < 0,05$). Entretanto, não foram detectadas diferenças significativas atribuídas à EPMP nas variáveis analisadas (Tabelas 2, 3 e 4).

TABELA 2 - Comparação das variáveis ecocardiográficas (média $\pm$ desvio padrão) por doppler de cães doadores de sangue nos momentos T0 (antes da doação), T1 (após a doação) e T2 (com EPMP).

Variáveis	T0	T1	T2	Valor p
OndaE (m/s)	0,82 $\pm$ 0,18 ^a	0,66 $\pm$ 0,17 ^b	0,685 $\pm$ 0,17 ^a	0,0093*
OndaA (m/s)	0,73 $\pm$ 0,19 ^a	0,53 $\pm$ 0,24 ^b	0,51 $\pm$ 0,17 ^b	0,0001*
Vel_max (m/s)	1,63 $\pm$ 0,40 ^a	1,30 $\pm$ 0,39 ^b	1,30 $\pm$ 0,29 ^b	0,0000*
Vel_min(m/s)	1,47 $\pm$ 0,40 ^a	1,13 $\pm$ 0,28 ^b	1,15 $\pm$ 0,26 ^b	0,0000*
Δ Vel (%)	10,44 $\pm$ 7,76 ^a	12,99 $\pm$ 7,33 ^a	12,00 $\pm$ 6,44 ^a	0,4317
VTI_MAX (cm)	17,96 $\pm$ 4,08 ^a	13,98 $\pm$ 3,92 ^b	14,56 $\pm$ 3,86 ^b	0,0000*
VTI_MIN (cm)	15,86 $\pm$ 4,23 ^a	11,85 $\pm$ 3,01 ^b	12,49 $\pm$ 3,58 ^b	0,0000*
Δ VTI (%)	13,19 $\pm$ 7,16 ^a	16,06 $\pm$ 7,70 ^a	16,13 $\pm$ 10,28 ^a	0,8869

Legenda: OndaE (m/s): Velocidade do fluxo transmitral passivo, OndaA (m/s): Velocidade do fluxo transmitral ativo. Vel_max (m/s): Velocidade máxima do fluxo aórtico, Vel_min (m/s): Velocidade mínima do fluxo aórtico, Δ Vel (%): Variação percentual entre Vel_max e Vel_min ((Vel_max – Vel_min) x 100 / (Média de Vel_max e Vel_min)). VTI_MAX (cm): Integral do Tempo de Velocidade máxima. VTI_MIN (cm): Integral do Tempo de Velocidade mínima. Δ VTI (%): Variação percentual entre VTI_MAX e VTI_MIN ((VTI_MAX – VTI_MIN) x 100 / (Média de VTI_MAX e VTI_MIN)). * $p < 0,05$ (Friedman). Letras diferentes (a, b) indicam diferença entre tempos.

TABELA 3 - Comparação das variáveis ecocardiográficas (média $\pm$ desvio padrão) volumétricas do átrio esquerdo em cães doadores de sangue nos momentos T0 (antes da doação), T1 (após a doação) e T2 (com EPMP).

Variáveis	T0	T1	T2	Valor p
Vol_max (mL/kg)	0,676 $\pm$ 0,236 ^a	0,510 $\pm$ 0,187 ^b	0,499 $\pm$ 0,122 ^b	0,0002*
Vol_min (mL/kg)	0,269 $\pm$ 0,113 ^a	0,261 $\pm$ 0,103 ^a	0,251 $\pm$ 0,088 ^a	0,6926
Vol_pa (mL/kg)	0,479 $\pm$ 0,182 ^a	0,385 $\pm$ 0,138 ^a	0,365 $\pm$ 0,124 ^a	0,0353*
VAEj (mL/g)	0,408 $\pm$ 0,176 ^a	0,249 $\pm$ 0,136 ^b	0,248 $\pm$ 0,101 ^b	0,0000*
FEAE (%)	58,808 $\pm$ 12,731 ^a	45,88 $\pm$ 14,72 ^b	48,34 $\pm$ 13,57 ^b	0,0003*
VPAE_ (mL/kg)	0,197 $\pm$ 0,159 ^a	0,126 $\pm$ 0,095 ^a	0,133 $\pm$ 0,096 ^a	0,2276
FPAE (%)	27,00 $\pm$ 20,112 ^a	23,28 $\pm$ 14,55 ^a	25,92 $\pm$ 17,25 ^a	0,7768
VAAE (mL/kg)	0,211 $\pm$ 0,107 ^a	0,124 $\pm$ 0,086 ^b	0,115 $\pm$ 0,080 ^b	0,0011*
FAAE (%)	40,923 $\pm$ 16,620 ^a	29,28 $\pm$ 16,95 ^b	27,73 $\pm$ 18,95 ^b	0,0002*
IEAE	1,962 $\pm$ 1,183 ^a	1,24 $\pm$ 1,16 ^b †	1,23 $\pm$ 0,65 ^b †	0,0003*

Legenda: Vol_max = volume máximo atrial esquerdo indexado pelo peso, Vol_min = volume mínimo atrial esquerdo indexado pelo peso, Vol_pa = volume na pré- contração atrial esquerda indexado pelo peso, VAEj = volume atrial esquerdo ejetado na fase reservatória indexado pelo peso, FEAE (%) = fração de ejeção atrial esquerda da fase reservatória, VPAE = volume atrial esquerdo ejetado na fase condutora indexado pelo peso, FPAE (%) = fração de ejeção atrial esquerda na fase condutora, FAAE = volume ejetado pelo átrio esquerdo na fase de bomba, FAAE (%) = fração de ejeção do átrio esquerdo na fase de bomba e IEAE = Índice de expansão do átrio esquerdo. * $p < 0,05$ (Friedman). Letras diferentes (a, b) indicam diferença entre tempos. † indica T1 = T2 ($p > 0,05$).

Tabela 4: Comparação das fases (média $\pm$ desvio padrão) do átrio esquerdo de cães doadores de sangue pelo método *strain* nos momentos T0 (antes da doação), T1 (após a doação) e T2 (com EPMP).

Variáveis	T0	T1	T2	Valor p
StR_Média (%)	29,43 $\pm$ 7,28 ^a	23,78 $\pm$ 7,77 ^a †	22,48 $\pm$ 6,38 ^b †	0,0062*
StR_Mediana (%)	29,43 $\pm$ 6,76 ^a	23,65 $\pm$ 8,78 ^b	21,41 $\pm$ 6,0 ^b	0,0000*
StCD_Média (%)	-16,70 $\pm$ 5,34 ^a	-14,74 $\pm$ 5,57 ^a	-13,77 $\pm$ 4,44 ^a	0,0706
StCD_Mediana (%)	-16,304 $\pm$ 5,10 ^a	-14,565 $\pm$ 6,88 ^a	-13,50 $\pm$ 4,88 ^a	0,0739
StCT_Média (%)	-12,83 $\pm$ 4,89	-9,014 $\pm$ 4,48	-8,70 $\pm$ 4,60	0,0005*
StCT_Mediana (%)	-13,08 $\pm$ 5,34 ^a	-9,26 $\pm$ 5,05 ^b	-8,54 $\pm$ 4,94 ^b	0,0007*
CSI_Média (%)	-43,58 $\pm$ 14,18 ^a	-37,574 $\pm$ 15,78 ^a	-37,121 $\pm$ 18,47 ^a	0,7275
CSI_Mediana (%)	-45,48 $\pm$ 15,07 ^a	-37,88 $\pm$ 19,13 ^a	-37,30 $\pm$ 20,32 ^a	0,5796

Legenda: StR: *Strain* reservatório do átrio esquerdo, StCD: *strain* da fase de condução do átrio esquerdo, StCT: *strain* da fase de contração do átrio esquerdo, CSI = Índice de *strain* na contração do átrio esquerdo. * $p < 0,05$ (Friedman). Letras diferentes (a, b) indicam diferença entre tempos. † indica T1 = T2 ($p > 0,05$).

Com relação às variáveis relacionadas ao método Doppler (Tabela 2), a Onda E apresentou redução significativa ($p = 0,0097$), assim como a Onda A ($p = 0,0000$). Em relação às velocidades e VTI aórticos, Vel_max, Vel_min, VTI_MAX e VTI_MIN ($p < 0,0001$) exibiram reduções relevantes, enquanto a variabilidade dessas medidas (Δ Vel e Δ VTI) não mostrou diferenças significativas (Δ Vel: $p = 0,6924$; Δ VTI: $p = 1,0$). No subgrupo (≥ 10 ml/kg de sangue), a variável OndaE_Média perdeu significância estatística com valor de p de 0,0578 entre T0 e T1 (Tabela 5).

A avaliação dos volumes atriais evidenciou reduções estatisticamente significativas associadas à diminuição da pré-carga no grupo total (Tabela 3). Houve queda no volume máximo do átrio esquerdo (Vol_max; $p = 0,0002$) e tendência de redução no volume pré-contração atrial (Vol_pa), indicada pelo teste global de Friedman ($p = 0,0353$). No entanto, as comparações pareadas não atingiram significância estatística (T0 $\times$ T1 e T0 $\times$ T2; $p = 0,0825$) e não houve diferença entre T1 e T2 ($p = 1,000$).

Entre as frações de esvaziamento atrial, observaram-se reduções significativas nos valores de VAEj ($p < 0,0001$), FEAE ($p = 0,0003$), VAAE ($p = 0,0020$) e FAAE ($p = 0,0011$). O índice de expansão atrial esquerdo (IEAE) também apresentou redução significativa entre T0 e T1 ($p = 0,0059$). Em

contraste, o volume mínimo (Vol_min; $p = 1,0$), o volume ativo (VPAE; $p = 0,4141$) e a fração de esvaziamento passiva (FPAE; $p = 1,0$) permaneceram inalterados com a redução do volume circulante.

No subgrupo que recebeu ≥ 10 mL/kg de sangria, o volume pré-contracção atrial esquerdo (Vol_pa) demonstrou maior estabilidade, sem diferenças estatísticas entre os tempos. Tanto o teste global de Friedman ($p = 0,2907$) quanto as comparações pareadas apresentaram valores de $p > 0,05$ (Tabela 5).

A análise dos *strains* evidenciou diferenças na função atrial ao longo das fases de reservatória, condutora e ativa com a redução do volume circulante (Tabela 4). O *strain* na fase de reservatório (StR_Mediana; $p = 0,0138$) demonstrou redução significativa no grupo total, assim como o *strain* na fase ativa (StCT_Média; $p = 0,0027$). No entanto, o *strain* na fase condutora (StCD_Média; $p = 0,6042$) não apresentou diferença significativa no grupo total. Da mesma forma, o índice de *strain* na contracção (CSI), que representa a contribuição ativa do átrio esquerdo para o enchimento ventricular e é calculado pela razão entre o *strain* da contracção atrial e o *strain* total ($CSI = \epsilon_a / \epsilon_s \times 100$), não apresentou diferença significativa entre os tempos (CSI_Média; $p = 0,7275$ | CSI_Mediana; $p = 0,5796$), com $p = 1,0$ na comparação entre T0 e T1 para ambas as medidas. A comparação entre T0 e T1 não revelou diferenças no *strain* atrial entre o grupo total e o subgrupo.

A análise de respondedores à manobra de elevação dos membros pélvicos (Anexo E), considerando um aumento $\geq 15\%$ entre T1 e T2 nas variáveis Velocidade Aórtica Máxima e VTI Máximo, revelou que, na amostra total de 25 cães, 40% foram classificados como respondedores ($n = 10$), enquanto 60% não apresentaram resposta significativa à manobra ($n = 15$). A variação percentual da Velocidade Aórtica Máxima apresentou média de 3,28% com desvio-padrão de 15,61%, variando de -34,82% a 37,70%. O intervalo interquartil foi de -7,69% a 12,63%, e o intervalo de confiança de 95% (IC95%) variou de -2,84% a 9,40%. Para o VTI Máximo, a média de variação foi de 6,67% com desvio-padrão de 19,32%, oscilando entre -38,40% e 37,30%. O intervalo interquartil foi de -5,50% a 17,70%, e o IC95% variou de -0,91% a 14,24% (Tabela 7).

Tabela 5 - Comparação da significância (valor p) dos parâmetros ecocardiográficos entre os momentos T0 (antes da doação), T1 (após a doação) e T2 (EPMP) no subgrupo de cães que doaram ≥ 10 ml/kg de sangue.

Variável	Valor p	T0 x T1	T0 x T2	T1 x T2
OndaE_Media	0,0469*	0,0578	0,3099	1,0000
OndaA_Media	0,0013*	0,0016*	0,0149*	1,0000
Vel_max	0,0002*	0,0002*	0,0083*	1,0000
Vel_min	0,0000*	0,0004*	0,0001*	1,0000
Δ Vel	0,3050	0,5596	0,7594	1,0000
VTI_MAX	0,0000*	0,0000*	0,0042*	0,4008
VTI_MIN	0,0000*	0,0000*	0,0009*	1,0000
Δ VTI	0,5698	1,0000	1,0000	1,0000
StR_Média	0,0044*	0,0279*	0,0076*	1,0000
StR_Mediana	0,0005*	0,0149*	0,0003*	1,0000
StCD_Média	0,0083*	0,1377	0,0076*	1,0000
StCD_Mediana	0,0548	0,2156	0,0845	1,0000
StCT_Média	0,0047*	0,0149*	0,0149*	1,0000
StCT_Mediana	0,0133*	0,0149*	0,1377	1,0000
CSI_Média	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
CSI_Mediana	0,9311	1,0000	1,0000	1,0000
Vol_max	0,0121*	0,0350*	0,0350*	1,0000
Vol_min	0,4548	1,0000	0,8027	1,0000
Vol_pa	0,2907	0,4373	1,0000	1,0000
VAEj	0,0009*	0,0204*	0,0007*	1,0000
FEAE	0,0014*	0,0204*	0,0016*	1,0000
VPAE	0,0797	0,6003	0,0923	1,0000
FPAE	0,5890	1,0000	1,0000	1,0000
VAAE	0,0026*	0,0016*	0,0578	1,0000
FAAE	0,0016*	0,0032*	0,0115*	1,0000
IEAE	0,0012*	0,0350*	0,0204*	1,0000

Abreviações: T0 = antes da doação, T1 = imediatamente após a doação, T2 = um minuto após a manobra de elevação passiva modificada dos membros pélvicos (MPLR), vs = versus Onda E = velocidade do fluxo mitral passivo, Onda A = velocidade do fluxo mitral ativo, Vel_max = velocidade máxima do fluxo aórtico, Vel_min = velocidade mínima do fluxo aórtico, VTI_MAX = integral velocidade-tempo máxima, VTI_MIN = integral velocidade-tempo mínima, Δ Vel = variabilidade da velocidade do fluxo aórtico, Δ VTI = variabilidade da integral velocidade-tempo, StR = strain na fase de reservatório, StCD = strain na fase de conduíte, StCT = strain na fase contrátil, CSI = índice de strain na contração atrial, Vol_max = volume máximo do átrio esquerdo, Vol_min = volume mínimo do átrio esquerdo, Vol_preA = volume pré-contração atrial, VAEJ = volume de ejeção do átrio esquerdo, FEAE = fração de ejeção do átrio esquerdo, VPAE = volume de ejeção passiva do átrio esquerdo, FPAE = fração de ejeção passiva do átrio esquerdo, VAAE = volume de ejeção ativa do átrio esquerdo, FAAE = fração de ejeção ativa do átrio esquerdo, IEAE_média e IEAE_med = Índice de Expansão do Átrio Esquerdo (média e mediana, respectivamente). *p < 0,05 (teste de Friedman).

Em um subgrupo composto por 16 cães que apresentaram perda de sangue mais homogênea, observou-se uma distribuição equitativa entre respondedores e não respondedores, com 50% dos animais respondendo positivamente à manobra ($n = 8$). Nesse grupo, a variação percentual da Velocidade Aórtica Máxima teve média de 5,81% e desvio-padrão de 17,74%, com valores variando entre -34,82% e 37,70%. O intervalo interquartil foi de -6,23% a 14,24%, e o IC95% foi de -2,88% a 14,50%. Para o VTI Máximo, a média da variação foi de 10,97% com desvio-padrão de 18,29%, variando de -38,40% a 37,30%. O intervalo interquartil foi de 3,18% a 19,58%, e o IC95% de 2,01% a 19,93% (Tabela 6).

Tabela 6: Resumo estatístico das variações percentuais de Vel_max e VTI_MAX nos grupos total e no subgrupo com perda sanguínea ≥ 10 mL/kg, com classificação de resposta.

	Vel_Max Grupo Total	VTI_MAX Grupo Total	Vel_max Subgrupo (≥ 10 mL/kg)	VTI_MAX Subgrupo (≥ 10 mL/kg)
n	25	25	16	16
Média	3,284	6,668	5,811	10,969
DP	15,61	19,324	17,735	18,285
Mínimo	-34,82	-38,4	-34,82	-38,4
Q1	-7,69	-5,5	-6,228	3,175
Mediana	2,96	5,1	8,83	15,5
Q3	12,63	17,7	14,235	19,575
Máximo	37,7	37,3	37,7	37,3
IQR	20,32	23,2	20,46	16,4
IC1	-2,835	-0,907	-2,879	2,009
IC2	9,403	14,243	14,501	19,929
Resp	40%	40%	50%	50%
Não Resp	60%	60%	50%	50%

Legenda: n = número de cães avaliados; DP , = desvio padrão; $Q1$ e $Q3$ = primeiro e o terceiro quartis (25% e 75%); IQR = intervalo interquartil ($Q3 - Q1$); $IC1$ e $IC2$ = limites inferior e superior do intervalo de confiança de 95% da média; $Resp$ e $Não Resp$ = proporções (%) de respondedores e não respondedores à manobra de elevação passiva dos membros pélvicos, considerando aumento $\geq 15\%$ da variável entre T1 e T2.

A acurácia da velocidade máxima do fluxo aórtico (Vel_max) para prever a resposta à manobra de elevação passiva dos membros pélvicos, definida como aumento $>15\%$ entre os tempos T1 (hipovolemia) e T2 (pós-manobra), foi

analisada por curvas ROC no grupo total e no subgrupo com perda sanguínea mais homogênea (≥ 10 mL/kg) (Tabela 7). A Vel_max em T1 apresentou o melhor desempenho (AUC = 0,77), com sensibilidade de 90% e especificidade de 66,7%. No entanto, os valores preditivos foram baixos (PV+ = 9,1%; PV- = 35,7%). Em T0 e T2, o desempenho foi inferior (AUCs de 0,54 e 0,573, respectivamente), com sensibilidade entre 70–80% e especificidade em torno de 53%, mas com valores preditivos ainda insatisfatórios. Esses achados indicam que, embora a Vel_max em T1 tenha discriminado melhor os respondedores, os valores absolutos isolados não foram suficientemente acurados para substituir a análise da variação percentual entre T1 e T2.

No subgrupo de cães com perda sanguínea mais homogênea (≥ 10 mL/kg), os resultados foram semelhantes. A Vel_max em T1 manteve a maior AUC (0,703), com sensibilidade de 100% e especificidade de 50%, mas com PV+ nulo e PV- de 33,3%. Em T0 e T2, as AUCs foram 0,492 e 0,523, com valores preditivos igualmente baixos. A exclusão dos cães com menor volume de doação não melhorou significativamente a acurácia das variáveis, reforçando que a resposta à manobra depende da variação hemodinâmica entre T1 e T2, e não de valores absolutos.

A acurácia do VTI máximo da aorta (VTI_MAX) como preditor da resposta à manobra também foi avaliada por curvas ROC (Tabela 7). O melhor desempenho ocorreu em T1 (AUC = 0,743), com sensibilidade de 70%, especificidade de 80%, PV+ de 20,0% e PV- de 30,0%. Em T0 e T2, as AUCs foram 0,61 e 0,557, respectivamente, com valores preditivos igualmente baixos. Assim como observado com a Vel_max, os valores absolutos de VTI se mostraram pouco úteis para prever a resposta à manobra, sendo a variação percentual entre T1 e T2 o parâmetro mais informativo.

No subgrupo com perda sanguínea ≥ 10 mL/kg, os resultados mantiveram padrão semelhante. O VTI_MAX em T1 apresentou AUC de 0,672, sensibilidade de 87,5% e especificidade de 62,5%, com PV+ de 16,7% e PV- de 30,0%. Os demais tempos também apresentaram desempenho limitado.

Tabela 7: Acurácia da Vel_max e do VTI_MAX nos tempos T0, T1 e T2 para prever a resposta à manobra de elevação passiva dos membros pélvicos, no grupos total e no subgrupo com perda sanguínea ≥ 10 mL/kg.

Variável grupo (n=26)	AUC	Sens (%)	Esp (%)	PV+ (%)	PV- (%)
Vel_max_T0	0,54	80	53,3	20	46,7
Vel_max_T1	0,77	90	66,7	9,1	35,7
Vel_max_T2	0,573	70	53,3	27,3	50
VTI_max_T0	0,61	70	73,3	21,4	36,4
VTI_max_T1	0,743	70	80	20	30
VTI_max_T2	0,557	30	93,3	33,3	25
Variável subgrupo (n=17)	AUC	Sens (%)	Esp (%)	PV+ (%)	PV- (%)
Vel_max_T0	0,492	87,5	37,5	25	41,7
Vel_max_T1	0,703	100	50	0	33,3
Vel_max_T2	0,523	62,5	62,5	37,5	37,5
VTI_max_T0	0,625	75	75	25	25
VTI_max_T1	0,672	87,5	62,5	16,7	30
VTI_max_T2	0,531	75	50	33,3	40
Variável grupo (n=26)	AUC	Sens (%)	Esp (%)	PV+ (%)	PV- (%)
Vel_max_T0	0,54	80	53,3	20	46,7
Vel_max_T1	0,77	90	66,7	9,1	35,7
Vel_max_T2	0,573	70	53,3	27,3	50
Variável subgrupo (n=17)	AUC	Sens (%)	Esp (%)	PV+ (%)	PV- (%)
Vel_max_T0	0,492	87,5	37,5	25	41,7
Vel_max_T1	0,703	100	50	0	33,3
Vel_max_T2	0,523	62,5	62,5	37,5	37,5

Legenda: T0 = imediatamente antes de doar sangue, T1 = imediatamente após doar sangue, T2 = manobra de elevação de membros pélvicos, ROC = Receiver Operating Characteristic, AUC = Area Under the Curve, Sens = sensibilidade, Espec = especificidade, PV+ = valor preditivo positivo, PV- = valor preditivo negativo, Vel_max = velocidade máxima do fluxo aórtico, VTI_MAX = VTI do fluxo aórtico máximo, Resp = respondedor, Não resp = não respondedor. Respondedores foram definidos como aqueles com aumento > 15% no VTI entre T1 e T2.

Na análise intradia, todas as variáveis ecocardiográficas apresentaram coeficientes de variação (CV%) inferiores a 15%, o que indica baixa variabilidade. Diferentemente, na análise interdia, a variável StCD ultrapassou esse limite, com CV de 24,31%, valor classificado como variabilidade moderada. Os valores completos encontram-se descritos na Tabela 8.

Tabela 8: Coeficientes de variação intradia e interdia das variáveis ecocardiográficas e respectivas classificações quanto à reprodutibilidade intraobservador.

Variável	CV Intradia (%)	CV Interdia (%)
Vol_max	6,03	3,57
Vol_pa	12,88	1,92
Vol_min	7,95	3,40
Onda E	5,42	2,92
Onda A	6,13	5,30
Vel_max	5,02	2,10
Vel_min	3,91	2,28
VTI_max	4,19	3,84
VTI_min	5,28	6,38
StR	7,00	10,98
StCD	14,08	24,31
StCT	13,95	12,10

Legenda: CV = coeficiente de variação; Classificação conforme Declodt et al. (2011): baixa (<15%), moderada (15–25%) e alta (>25%).

6 DISCUSSÃO

Este estudo propôs um modelo original para investigar a modulação atrial em condições fisiológicas, sem interferência anestésica ou ventilatória. A avaliação da função atrial frente a variações de pré-carga em cães saudáveis e conscientes permitiu explorar respostas adaptativas pouco descritas na literatura. Ao integrar medidas de strain, volumes fásicos e débito atrial, os achados ampliam o entendimento da mecânica atrial e reforçam o potencial diagnóstico de ferramentas não invasivas em contextos clínicos e experimentais.

A comparação entre os resultados do presente estudo e os achados de Coelho et al. (2020) revela diferenças importantes na resposta das variáveis ecocardiográficas à variação da pré-carga. Coelho et al. (2020) avaliaram cães com insuficiência valvar crônica, caracterizada por aumento progressivo da pré-carga, enquanto o presente estudo reduziu agudamente a pré-carga por meio da coleta de sangue. No estudo de Coelho et al. (2020), os volumes máximos (Vol_max), mínimos (Vol_min) e pré-contracção atrial (Vol_pa) foram significativamente maiores no grupo B2, indicando acúmulo progressivo de volume atrial como consequência da sobrecarga crônica de volume. Em contraste, o presente estudo demonstrou uma redução significativa de Vol_max ($p = 0,0011$) após a redução aguda da pré-carga, enquanto Vol_min e Vol_pa permaneceram inalterados ($p = 1,0000$ e $p = 0,0825$, respectivamente). Essa

diferença sugere que o Vol_min e Vol_pa são variáveis menos sensíveis a mudanças agudas de volume e podem ser mais influenciadas por remodelamento atrial crônico.

Além disso, Coelho et al. (2020) observaram que o StR e o StCD não apresentaram variação significativa entre os grupos, mesmo diante do aumento crônico da pré-carga, enquanto o StCT foi significativamente menor no grupo B2, sugerindo maior sensibilidade dessa variável às alterações estruturais associadas à progressão da doença. De forma distinta, o presente estudo demonstrou uma redução significativa tanto do StCT ($p = 0,0027$) quanto do StR ($p = 0,0138$) após a redução aguda da pré-carga, indicando que ambas as variáveis podem ser sensíveis a variações transitórias de carga em cães saudáveis. Por outro lado, o StCD permaneceu inalterado em ambos os contextos, tanto no modelo de sobrecarga crônica (Coelho et al., 2020) quanto neste modelo de hipovolemia aguda ($p > 0,05$), sugerindo maior estabilidade frente a variações agudas e crônicas da pré-carga, em condições fisiopatológicas distintas.

O CSI, que se manteve inalterado no presente estudo ($p = 1,0000$), apresentou redução progressiva em cães com insuficiência valvar crônica, sugerindo que essa variável é mais afetada pela deterioração funcional decorrente da sobrecarga crônica do que pela redução aguda da pré-carga. Portanto, a diferença de resposta entre os grupos analisados reflete a distinção fundamental entre a adaptação crônica do átrio esquerdo em cães doentes e a resposta aguda à redução de volume em cães saudáveis. Esse contraste é essencial para compreender os mecanismos compensatórios distintos envolvidos em situações de sobrecarga e redução aguda de pré-carga.

A comparação entre o presente estudo e o estudo de Savarino et al. (2024) destaca uma importante similaridade no comportamento do índice de expansão atrial esquerda (IEAE) frente às alterações de pré-carga. No presente estudo, a redução aguda da pré-carga resultou em uma diminuição significativa do IEAE ($p = 0,0059$; de $1,96 \pm 1,18$ para $1,24 \pm 1,16$), indicando que a capacidade de expansão do átrio esquerdo foi comprometida pela redução brusca do volume circulante. De forma semelhante, Savarino et al. (2024) observaram que o IEAE reduziu progressivamente com o avanço da DMVM, sendo drasticamente menor

nos cães sintomáticos (ACVIM C/D), o que evidencia perda da capacidade de expansão atrial diante da sobrecarga volêmica crônica.

Embora as condições avaliadas sejam distintas, o presente estudo e o de Savarino et al. (2024) demonstram que o IEAE é sensível a alterações na pré-carga, seja pela redução aguda, como observado neste estudo, ou pelo aumento crônico decorrente da progressão da DMVM. A principal diferença, no entanto, é que, em cães saudáveis, o IEAE sofre uma redução acentuada diante de uma queda brusca da pré-carga, enquanto em átrios doentes esse índice já se encontra reduzido devido ao remodelamento atrial crônico e à perda progressiva da capacidade de distensibilidade. Esses achados sugerem que átrios saudáveis e doentes respondem de maneira distinta às variações de pré-carga, e que o IEAE pode ser um marcador útil para diferenciar essas respostas e avaliar a distensibilidade atrial em diferentes contextos clínicos.

A comparação entre o presente estudo e os achados de Gottfridsson et al. (2022) revela semelhanças na resposta de variáveis ecocardiográficas à redução da pré-carga. Gottfridsson et al. (2022) observaram que a aplicação de CPAP reduziu significativamente o StR, o VTI e a onda E, enquanto a onda A permaneceu estável, indicando que a função de reservatório é mais sensível à redução da pré-carga do que a função de contração ativa.

No presente estudo, a onda E também reduziu significativamente ($p = 0,0097$; $0,82 \text{ m/s} \pm 0,18$ para $0,66 \text{ m/s} \pm 0,17$) e o StR Mediana apresentou redução significativa ($p = 0,0138$; $29,43\% \pm 6,76$ para $23,65\% \pm 8,78$), corroborando os achados de Gottfridsson et al. (2022). Por outro lado, a onda A mostrou uma redução significativa ($p = 0,0000$; $0,73 \text{ m/s} \pm 0,19$ para $0,53 \text{ m/s} \pm 0,24$), diferentemente do relato de Gottfridsson et al. (2022), que encontrou estabilidade dessa variável.

Ambos os estudos indicam que o VTI é sensível à redução da pré-carga, apresentando reduções significativas no presente estudo (VTI_MAX e VTI_MIN; $p = 0,0000$) e no trabalho de Gottfridsson et al. (2022). No entanto, a onda A parece ser menos sensível à variação de carga, especialmente em situações crônicas, embora tenha apresentado redução significativa no presente estudo, possivelmente por diferenças nas características dos indivíduos estudados.

No presente estudo, a variabilidade respiratória do VTI (ΔVTI) e da velocidade aórtica máxima (ΔVel) não apresentaram diferença significativa entre

os momentos avaliados, o que poderia sugerir, à primeira vista, baixa sensibilidade dessas variáveis à variação de pré-carga em cães conscientes e respirando espontaneamente. No entanto, essa interpretação deve ser feita com cautela, uma vez que o modelo experimental adotado difere substancialmente daquele descrito por Ma et al. (2023), em que pacientes humanos com choque séptico, sob ventilação mecânica controlada e submetidos a prova de carga com infusão de volume, apresentaram alta acurácia do ΔVTI para predição de responsividade volêmica. No presente estudo, por outro lado, não houve administração ativa de fluido, e os cães, por estarem acordados, provavelmente ativaram mecanismos compensatórios que podem ter atenuado as variações hemodinâmicas. Assim, os resultados obtidos não permitem descartar a utilidade desses índices, mas reforçam a necessidade de validação adicional em modelos fisiológicos distintos.

Os resultados deste estudo contrastam com os de Paranjape et al. (2019, 2023a, 2023b), que demonstraram significativa responsividade volêmica com base na redução de variabilidade de PVI e PPV e no aumento do débito cardíaco acima de 15% após reposição volêmica. Nos estudos de Paranjape, tanto porcos quanto cães anestesiados mostraram respostas hemodinâmicas claras à perda e à reposição de volume, com aumento robusto do débito cardíaco (até 39% após EPMP). Em contrapartida, neste estudo, nem o ΔVTI ($p = 1,0000$) nem o VTI_MAX ($p = 0,8722$) apresentaram alterações significativas entre os momentos T1 e T2, sugerindo baixa sensibilidade dessas variáveis para detectar variações de pré-carga no modelo utilizado (cães não anestesiados e sem ventilação controlada).

Os resultados do presente estudo demonstraram uma resposta heterogênea à manobra de elevação passiva dos membros pélvicos, com 40% dos cães classificados como respondedores quando considerado um aumento $\geq 15\%$ entre T1 e T2. Esse achado contrasta com o estudo de Oliveira et al. (2021), que identificou acurácia elevada dos parâmetros ecocardiográficos para discriminar respondedores de não respondedores após infusão rápida de Ringer Lactato em cães anestesiados. Nesse estudo, a variação percentual do VTI (DVTIFC) apresentou AUROC de 0,901, superior à da velocidade máxima (DVmaxFC), com AUROC de 0,774, sugerindo uma resposta mais previsível ao desafio de volume.

No presente estudo, as variações percentuais de Vel_max ($3,28\% \pm 15,6\%$) e VTI_MAX ($6,67\% \pm 19,3\%$) mostraram ampla variabilidade individual e ausência de padrão consistente entre respondedores e não respondedores. No grupo total ($n = 25$), 40% dos cães (10/25) responderam à manobra, enquanto 60% (15/25) não apresentaram resposta. No subgrupo com perda sanguínea mais homogênea (≥ 10 mL/kg; $n = 16$), observaram-se aumentos percentuais médios de $5,81\% (\pm 17,7\%)$ para Vel_max e $10,97\% (\pm 18,3\%)$ para VTI_MAX, com 50% dos cães (8/16) classificados como respondedores, indicando uma tendência de resposta mais pronunciada, embora ainda variável. Ainda que uma tendência de resposta seja observada no subgrupo, o número de casos avaliados pode não ter sido suficiente para confirmar um padrão reprodutível.

Enquanto Oliveira et al. (2021) utilizaram a variação percentual do VTI e a termodiluição transpulmonar como referência, este estudo avaliou variáveis absolutas em diferentes tempos hemodinâmicos. A Vel_max em T1 foi a variável com melhor desempenho (AUROC = 0,77), seguida pelo VTI_MAX (AUROC = 0,743), ambas com baixos valores preditivos. Apesar das diferenças metodológicas, ambos os estudos apoiam o uso do VTI na avaliação da resposta à expansão volêmica. Contudo, no presente estudo, a Vel_max apresentou desempenho ligeiramente superior ao VTI_MAX na distinção entre respondedores e não respondedores, embora nenhuma variável absoluta tenha se mostrado suficientemente acurada para substituir a análise da variação percentual entre T1 e T2.

A discrepância em relação aos achados de Oliveira et al. (2021) e dos estudos de Paranjape et al. (2019, 2023a, 2023b) pode ser atribuída principalmente às diferenças metodológicas e ao estado fisiológico dos animais estudados. Enquanto Oliveira e Paranjape conduziram seus estudos em cães anestesiados submetidos a desafios de volume ativo, o presente estudo avaliou cães acordados em estado de hipovolemia controlada, utilizando a manobra passiva de elevação dos membros pélvicos (EPMP).

Essa diferença é relevante porque animais acordados podem ativar mecanismos compensatórios, como contração esplênica e aumento da extração de oxigênio (CRUZ JR et al., 2011), o que pode mascarar mudanças em variáveis aórticas como o VTI. Além disso, índices dinâmicos como PVI e PPV, empregados nos estudos de Paranjap, são particularmente sensíveis a

variações de volume sob ventilação controlada, condição que não se aplica aos cães deste estudo, que respiravam espontaneamente.

Na análise da variabilidade intraobservador, todas as variáveis intradia apresentaram coeficientes de variação (CV) inferiores a 15%, indicando baixa variabilidade segundo o critério proposto por Decloedt et al. (2011). O maior CV intradia foi observado para o strain na fase de condução (StCD), com 14,08%. Para o CV interdia, apenas StCD ultrapassou esse limite, apresentando variabilidade moderada (24,31%). Ao comparar com os resultados de Coelho et al. (2020), obtidos em cães com doença valvar mitral e dilatação atrial, os valores do presente estudo mostraram-se geralmente mais elevados, especialmente para os parâmetros volumétricos: CV de 6,03% para vol_max e 7,95% para vol_min, contra 4,25% e 3,17% em Coelho et al., respectivamente. Ainda que dentro de faixas compatíveis, os valores de strain também foram mais altos neste estudo: StR = 7,00% (vs. 3,18%), StCT = 13,95% (vs. 4,05%) e StCD = 14,08% (vs. 2,62%).

Essa discrepância pode estar relacionada ao fato de os cães do presente estudo serem saudáveis e sem aumento atrial, o que reduz a amplitude da deformação e pode dificultar o cálculo do strain, especialmente nas fases com menor movimentação atrial. Por outro lado, a dilatação atrial presente nos cães com doença valvar mitral avaliados por Coelho et al. (2020) pode ter facilitado o rastreamento das paredes atriais e contribuído para a menor variabilidade observada naquele estudo. Além disso, o StCD é uma variável derivada da subtração entre os componentes de strain da fase de reservatório e contração ($\text{StR} - \text{StCT}$), sendo mais suscetível à propagação de erros e caracterizando uma fase naturalmente associada a menor deformação miocárdica. Esses fatores podem justificar sua maior variabilidade, também observada no estudo de Coelho et al., em que o CV interobservador para StCD foi de 24,47%.

Para estudos futuros, sugere-se testar diferentes ângulos de inclinação na EPMP e substituir o CPAP pelo *tilt test* como manobra de desafio volêmico. Essa abordagem pode aumentar a sensibilidade do modelo. Também pode ter aplicação clínica em cães com menos de 20 kg. Esses animais não foram incluídos neste estudo por não poderem doar sangue. No entanto, representam a população mais afetada pela degeneração mixomatosa da valva mitral.

O modelo utilizado demonstrou ser viável para caracterizar a resposta atrial à hipovolemia aguda em cães acordados. A redução da pré-carga resultou em alterações significativas nas variáveis de strain, volume e débito atrial, revelando padrões de adaptação pouco descritos na medicina veterinária. Esses achados reforçam o valor da EPMP como manobra de desafio volêmico e abrem espaço para aplicações clínicas e translacionais, especialmente em cenários de avaliação funcional atrial.

7 CONCLUSÃO

Os achados deste estudo mostram que, embora muitas variáveis ecocardiográficas sejam sensíveis às variações de pré-carga, algumas permaneceram estáveis mesmo diante da hipovolemia aguda. Isso reforça a importância de considerar o estado volêmico na interpretação ecocardiográfica e no manejo de fluidos em medicina veterinária.

Apesar de a EPMP a 30° não ter restaurado os parâmetros hemodinâmicos, o uso de cães doadores de sangue demonstrou ser um modelo experimental viável e reprodutível para o estudo da pré-carga. A remoção controlada de sangue permitiu uma avaliação sistemática dos efeitos volêmicos sobre variáveis ecocardiográficas em condições fisiológicas. Como limitações, destacam-se o tempo fixo e a inclinação única da EPMP, além da ausência de comparação com animais anestesiados. Para estudos futuros, sugere-se testar novos ângulos, tempos de avaliação e a inclusão de manobras adicionais, como o tilt test, para ampliar a aplicabilidade clínica e a sensibilidade do modelo.

BIBLIOGRAFIA

1. ABDUCH, M. C. D.; ALENCAR, A. M.; MATHIAS JR., W.; VIEIRA, M. L. C. Estudo da mecânica cardíaca pelo speckle tracking. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 102, n. 4, p. 403–412, 2014.
2. ALVARADO-SÁNCHEZ, J. I. The passive leg raising test (PLR). **Colombian Journal of Anesthesiology**, v. 43, n. 3, p. 214–218, 2015.
3. BLUME, G. G.; MCLEOD, C. J.; BARNES, M. E.; SEWARD, J. B.; PELLIKKA, P. A.; BASTIANSEN, P. M.; TSANG, T. S. M. Left atrial function: Physiology, assessment,

and clinical implications. **European Journal of Echocardiography**, v. 12, n. 6, p. 421–430, 2011.

4. CAIVANO, D.; RISHNIW, M.; BIRETTONI, F.; PATATA, V.; GIORGI, M. E.; PORCJELLO, F. Left atrial deformation and phasic function determined by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in dogs with myxomatous mitral valve disease. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 20, n. 2, p. 102–114, 2018.
5. CAMBOURNAC, M.; GOY-THOLLOT, I.; VIOLÉ, A.; BOISVINEAU, C.; POUZOT-NEVORET, C.; BARTHÉLEMY, A. Sonographic assessment of volaemia: Development and validation of a new method in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 59, n. 3, p. 174–182, 2018.
6. CHEN, C.; YANG, Y.; MA, W.; QI, L.; ZHANG, B.; ZHANG, Y. Left atrial phasic function remodeling during its enlargement: a two-dimensional speckle-tracking echocardiography study. **BMC Cardiovascular Disorders**, v. 22, n. 1, p. 1–9, 2022.
7. COELHO, M. R.; MUZZI, R. A. L.; ABREU, C. B.; SCHULIEN, T.; MUZZI, L. A. L.; OLIVEIRA, L. E. D.; CHEREM, M. Assessment of left atrial function in dogs with myxomatous mitral valve disease by biplane simpson's method. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 70, n. 5, p. 1349–1354, 2018.
8. COELHO, M. R.; MUZZI, R. A. L.; DORNELES, E. M. S.; PEREIRA, G. G.; CABRAL, R. M.; MUZZI, L. A. L.; ABREU, C. B.; OLIVEIRA, L. E. D. Evaluation of left atrial function in asymptomatic dogs with chronic myxomatous mitral valve disease: Two-dimensional feature-tracking echocardiography and Simpson's monoplanar methods. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 40, n. 3, p. 188–196, 2020.
9. CRUZ JR, R. J.; GARRIDO, A. G.; CALY, D. N.; ROCHA-E-SILVA, M. Hepatosplanchnic vasoregulation and oxygen consumption during selective aortic blood flow reduction and reperfusion. **Journal of Surgical Research**, v. 171, p. 532–539, 2011.
10. DE OLIVEIRA, G. C. V.; TEIXEIRA-NETO, F. J.; DALMAGRO, T. L.; ALFONSO, A.; CELEITA-RODRÍGUEZ, N.; LOBO, C. P. C.; LOURENÇO, M. L. G. Use of aortic flow indexes derived from transthoracic echocardiography to evaluate response to a fluid challenge in anesthetized dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 48, n. 2, p. 187–197, mar. 2021.
11. DECLOEDT, A. *et al.* Quantification of left ventricular longitudinal strain, strain rate, velocity, and displacement in healthy horses by 2-dimensional speckle tracking. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, p. 330–338, 2011.

12. DRAGOUMANOS, V.; IACOVIDOU, N.; CHALKIAS, A.; LELOVAS, P.; KOUTSOVASILIS, A.; PAPALOIS, A.; XANTHOS, T. Passive leg raising during cardiopulmonary resuscitation results in improved neurological outcome in a swine model of prolonged ventricular fibrillation. *American Journal of Emergency Medicine*, v. 30, p. 1935–1942, 2012.
13. FREID, K. J.; FREEMAN, L. M.; RUSH, J. E.; CUNNINGHAM, S. M.; DAVIS, M. S.; KARLIN, E. T.; YANG, V. K. Retrospective study of dilated cardiomyopathy in dogs. ***Journal of Veterinary Internal Medicine***, v. 35, n. 1, p. 58–67, 2021.
14. FUENTES, V. L.; ABBOTT, J.; CHETBOUL, V.; CÔTÉ, E.; FOX, P. R.; HÄGGSTRÖM, J.; KITTLESON, M. D.; SCHÖBER, K.; STERN, J. A. ACVIM consensus statement guidelines for the classification, diagnosis, and management of cardiomyopathies in cats. ***Journal of Veterinary Internal Medicine***, v. 34, n. 3, p. 1062–1077, 2020.
15. GAN, G. C. H.; BHAT, A.; CHEN, H. H. L.; FERNANDEZ, F.; BYTH, K.; ESHOO, S.; THOMAS, L. Determinants of LA reservoir strain: Independent effects of LA volume and LV global longitudinal strain. ***Echocardiography***, v. 37, n. 12, p. 2018–2028, 2020.
16. GENOVESE, D.; SINGH, A.; VOLPATO, V.; KRUSE, E.; WEINERT, L.; YAMAT, M.; MOR-AVI, V.; ADDETIA, K.; LANG, R. M. Load Dependency of Left Atrial Strain in Normal Subjects. ***Load Dependency of Left Atrial Strain in Normal Subjects***, v. 31, n. 11, p. 1221–1228, 2018.
17. GENOVESE, D.; MURARU, D.; PERRAZOLO MARRA, M.; CARRER, A.; PREVITERO, M.; PALERMO, C.; TARANTINI, G.; PARATI, G.; ILICETO, S.; BADANO, L. P. Left Atrial Expansion Index for Noninvasive Estimation of Pulmonary Capillary Wedge Pressure: A Cardiac Catheterization Validation Study. ***Journal of the American Society of Echocardiography***, v. 34, n. 12, p. 1242–1252, dez. 2021.
18. GALIZIA, G.; ABETE, P. Usefulness of the tilt table test: A “geriatric” point of view. ***Journal of the American Geriatrics Society***, v. 70, p. 3296–3299, nov. 2016.
19. GOTTFRIDSSON, P.; A'ROCH, R.; LINDQVIST, P.; LAW, L.; MYRBERG, T.; HULTIN, M.; A'ROCH, A.; HANEY, M. Left atrial contraction strain and controlled preload alterations, a study in healthy individuals. ***Cardiovascular Ultrasound***, v. 20, n. 1, p. 4–9, 2022.
20. HOIT, B. D. Assessment of Left Atrial Function by Echocardiography: Novel Insights. ***Current Cardiology Reports***, v. 20, n. 10, 2018.
21. HÖLLMER, M.; WILLESEN, J. L.; TOLVER, A.; KOCH, J. Left atrial volume and phasic function in clinically healthy dogs of 12 different breeds. ***Veterinary Journal***, v. 197, n. 3, p. 639–645, 2013.

22. JABOT, J.; TEBOUL, J. L.; RICHARD, C.; MONNET, X. Passive leg raising for predicting fluid responsiveness: Importance of the postural change. **Intensive Care Medicine**, v. 35, n. 1, p. 85–90, 2009.
23. KEBED, K. Y.; ADDETIA, K.; LANG, R. M. Importance of the Left Atrium: More Than a Bystander? **Heart Failure Clinics**, v. 15, p. 191–204, 2019.
24. KEENE, B. W.; ATKINS, C. E.; BONAGURA, J. D.; FOX, P. R.; HÄGGSTRÖM, J.; FUENTES, V. L.; OYAMA, M. A.; RUSH, J. E.; STEPIEN, R.; UECHI, M. ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, n. 3, p. 1127–1140, 2019.
25. LEBLANC, N.; SCOLLAN, K.; SISSON, D. Quantitative evaluation of left atrial volume and function by one-dimensional, two-dimensional, and three-dimensional echocardiography in a population of normal dogs. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 18, p. 336–349, 2016.
26. MA, Q.; DING, C.; JIANG, F.; HU, G.; WU, J.; ZHANG, X. Respiratory variability of valvular peak systolic velocity as a new indicator of fluid responsiveness in patients with septic shock. **Shock**, v. 60, n. 1, p. 11–17, jul. 2023.
27. MARINO, P. N.; DEGIOVANNI, A.; ZANABONI, J. Complex interaction between the atrium and the ventricular filling process: The role of conduit. **Open Heart**, v. 6, n. 2, p. 1–6, 2019.
28. MARSHALL, K. A.; THOMOVSKY, E. J.; BROOKS, A. C.; JOHNSON, P. A.; LIM, C. K.; HENG, H. G. Ultrasound measurements of the caudal vena cava before and after blood donation in 9 greyhound dogs. *Canadian Veterinary Journal (CVJ)*, v. 59, set. 2018.
29. MATSUMOTO, A. Y.; MANCUSO, F. J. N.; TATANI, S. B.; MACHADO, C. V.; HOTTA, V. T.; MOISÉS, V. A. Echocardiographic Evaluation of Left Atrial Function: Physiological and Clinical Aspects. **Arquivos Brasileiros De Cardiologia - Imagem Cardiovascular**, v. 27, n. 2, p. 87–96, 2014.
30. MESSMER, A. S.; ZINGG, C.; MÜLLER, M.; GERBER, J. L.; SCHEFOLD, J. C.; PFORTMUELLER, C. A. Fluid Overload and Mortality in Adult Critical Care Patients—A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies*. **Critical Care Medicine**, v. 48, n. 12, p. 1862–1870, dez. 2020.
31. NAKAMURA, K.; KAWAMOTO, S.; OSUGA, T.; MORITA, T.; SASAKI, N.; MORISHITA, K.; OHTA, H.; TAKIGUCHI, M. Left Atrial Strain at Different Stages of Myxomatous Mitral Valve Disease in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, n. 2, p. 316–325, 2017.

32. ORDE, S.; SLAMA, M.; HILTON, A.; YASTREBOV, K.; McLEAN, A. Pearls and pitfalls in comprehensive critical care echocardiography. **Critical Care**, Londres, v. 21, n. 1, p. 279, 2017
33. ORICCO, S.; RABOZZI, R.; MENEHINI, C.; FRANCI, P. Usefulness of focused cardiac ultrasonography for predicting fluid responsiveness in conscious, spontaneously breathing dogs. **American Journal of Veterinary Research (AJVR)**, v. 80, n. 4, abr. 2019.
34. OSUGA, T.; NAKAMURA, K.; MORITA, T.; LIM, S. Y.; YOKOYAMA, N.; MORISHITA, K.; OHTA, H.; TAKIGUCHI, M. Effects of various cardiovascular drugs on indices obtained with two-dimensional speckle tracking echocardiography of the left atrium and time-left atrial area curve analysis in healthy dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 76, n. 8, p. 702–709, 2015.
35. PARANJAPPE, V. V.; HENAO-GUERRERO, N.; MENCIOTTI, G.; SAKSENA, S. Volumetric evaluation of fluid responsiveness using a modified passive leg raise maneuver during experimental induction and correction of hypovolemia in anesthetized dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 50, n. 3, p. 211–219, maio 2023a.
36. PARANJAPPE, V. V.; HENAO-GUERRERO, N.; MENCIOTTI, G.; SAKSENA, S..Performance of four cardiac output monitoring techniques vs. intermittent pulmonary artery thermodilution during a modified passive leg raise maneuver in isoflurane-anesthetized dogs. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, p. 1238549, 14 set. 2023b.
37. PARANJAPPE, V. V.; SHIH, A. C.; GARCIA-PEREIRA, F. L. Use of a modified passive leg-raising maneuver to predict fluid responsiveness during experimental induction and correction of hypovolemia in healthy isoflurane-anesthetized pigs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 80, n. 1, p. 24–32, 2019.
38. SAVARINO, P.; CROSARA, S.; POGGI, M.; ORICCO, S.; CHIAVASSA, V.; DEGIOVANNI, A.; TARDUCCI, A. Left atrial volume and function in Cavalier King Charles spaniels at different ACVIM stages. **Research in Veterinary Science**, v. 180, p. 105428, 2024.
39. SILBIGER, J. J. Pathophysiology and Echocardiographic Diagnosis of Left Ventricular Diastolic Dysfunction. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 32, n. 2, p. 216- 232.e2, 2019.
40. THOMAS, W. P. et al. Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 7, n. 4, p. 247–252, 1993.
41. TOSUWAN, J.; SURACHETPONG, S. D.; HUNPRASIT, V. Assessment of left atrial myocardial deformation using two-dimensional speckle-tracking echocardiography in

cats with cardiogenic and non-cardiogenic arterial thromboembolism. **International Journal of Veterinary Science and Medicine**, v. 11, n. 1, p. 11–22, 31 dez. 2023.

42. VAN GROOTEL, R. W. J. et al. In-depth echocardiographic analysis of left atrial function in healthy adults using speckle tracking echocardiography and volumetric analysis. **Echocardiography**, v. 35, n. 12, p. 1956–1965, 2018.

Este trabalho foi formatado de acordo com as normas de submissão da revista **Scientific Reports (Springer Nature)**, conforme descrito nas diretrizes disponíveis em: <https://www.nature.com/srep/author-instructions/submission-guidelines>.

Left Atrial Strain Response to Acute Preload Reduction in Healthy Dogs: A Translational Blood Donation Model

Renata Benedetti Cepinho¹, Miriam Harumi Tsunemi², Maria Lúcia Gomes Lourenço^{1*}, Mayra de Castro Ferreira Lima¹, Adriana Aparecida Lopes de Souza¹, Carlos Javier Lainez Reyes¹, and Rodrigo Francisco¹

¹ Department of Veterinary Clinics, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University (UNESP), Botucatu, SP, 18618-970, Brazil

² Institute of Biosciences, São Paulo State University (UNESP), Botucatu, SP, 18618-689, Brazil

*Corresponding author: maria-lucia.lourenco@unesp.br | Tel: +55 14 3880 2044

ABSTRACT

Left atrial function (LAF) is crucial to hemodynamics, but the effects of preload variation on its echocardiographic indices remain unclear. This study aimed to identify preload-independent phasic LA echocardiographic variables and to assess blood donor dogs as a hypovolemia model. Twenty-six healthy, client-owned dogs underwent transthoracic echocardiography before and after standardized blood donation. Phasic LA volumes and strain parameters were assessed, and a subgroup of dogs donating ≥ 10 mL/kg was also analyzed. After blood withdrawal, significant reductions were observed in maximum LA volume ($p = 0.0350$), LA ejection volume and LA ejection fraction ($p = 0.0204$), reservoir strain ($p = 0.0149$), and contractile strain ($p = 0.0149$), confirming their preload dependency. Conversely, minimum volume ($p = 1.0000$), pre-atrial contraction volume ($p = 0.4373$), and conduit strain ($p = 0.2156$) did not change significantly in the subgroup, indicating lower sensitivity to acute volume variation. These results demonstrate that different LA functional phases respond differently to preload changes and suggest that some parameters may be more stable for clinical interpretation under variable hemodynamic conditions. The blood donation model proved to be a practical and ethically acceptable method for assessing preload-dependent variables in conscious dogs.

Keywords: left atrial function; preload; echocardiography; *strain*; blood donation; dogs; hemodynamics; volumetric indices

Introduction

The left atrium (LA) plays a central role in modulating left ventricular filling and, therefore, in maintaining global cardiovascular function. Throughout the cardiac cycle, it operates as a reservoir during ventricular systole, a passive conduit in early diastole, and an active pump during atrial contraction, contributing significantly to stroke volume. These phasic functions are intricately dependent not only on atrial myocardial properties but also on left ventricular compliance, relaxation, and contraction dynamics [1], [2].

The evaluation of LA function has gained increasing importance due to its prognostic and diagnostic value across various cardiovascular diseases. Among emerging tools, left atrial strain—measured via speckle-tracking echocardiography—has been proposed as a sensitive marker of LA mechanics, providing functional insights beyond volumetric analysis [1], [3].

One important factor influencing LA function is preload, defined as the volume of blood returning to the heart. Acute changes in preload affect atrial volume and strain parameters differently depending on the phase of the cardiac cycle. Studies in humans have shown that LA reservoir strain and conduit strain are significantly reduced during acute preload reduction, such as that induced by tilt-table testing or continuous positive airway pressure (CPAP), whereas atrial

contractile strain remains more stable. This differential behavior reinforces the complexity of interpreting LA function under variable loading conditions [4], [5].

In veterinary medicine, however, the load dependency of LA strain remains poorly characterized, particularly in healthy animals. Most available studies have focused on animals with mitral valve disease, in which increased preload is associated with augmented atrial volume and functional changes. For instance, Coelho et al. (2020) and Savarino et al. (2024) demonstrated that progressive volume overload in dogs with myxomatous mitral valve disease leads to increased LA volumes and altered strain values, especially in the contractile phase [6], [7]. However, there is a lack of studies evaluating the impact of preload changes in healthy dogs, which limits our understanding of normal LA physiology and hampers the development of preload-independent diagnostic markers.

To address this gap, models of controlled preload variation are needed. Tilt testing, pharmacologic interventions, or mechanical maneuvers such as passive leg raising have been applied in humans and experimental animals to simulate acute changes in preload [4], [5], [8], [9]. Yet, such models may be impractical or ethically limited in veterinary clinical settings. Blood donation in healthy canine donors offers a reproducible and ethically acceptable alternative to induce acute preload reduction without the need for invasive procedures or pharmacological agents [10]. Despite this potential, the effects of blood donation-induced preload reduction on left atrial function have not been explored in the veterinary literature.

Considering these aspects, investigating the effects of acute preload reduction using a model based on voluntary blood donation in healthy dogs provides not only a reproducible and ethically appropriate method for studying cardiovascular physiology, but also an opportunity to promote awareness of veterinary blood donation. In many regions, the availability of canine blood products remains limited, and studies involving donor animals may contribute to both scientific progress and increased visibility of donation programs. This model avoids the need for invasive experimental hypovolemia and aligns with ethical research standards, particularly the 3Rs, which aim to minimize animal use and suffering in scientific studies [11].

Results

Thirty-eight healthy blood donor dogs were initially recruited based on specific inclusion criteria: age between 1 and 8 years, weight over 20 kg, docile temperament, and absence of pre-existing conditions, chronic medication use, recent surgeries (≤ 30 days), pregnancy, or lactation (< 45 days postpartum). Before each donation, all dogs underwent a physical examination and screening tests, including complete blood count, biochemical analysis (urea, creatinine, alt), PCR for bloodborne infectious diseases (babesiosis, anaplasmosis, ehrlichiosis, leishmaniasis, dirofilariasis, and brucellosis), and bimonthly coproparasitological exams.

Of the initially selected dogs, twelve were excluded due to insufficient blood collection ($N = 6$), non-cooperation during echocardiographic exams ($N = 2$), newly detected arrhythmias at T0 ($N = 1$), congenital heart disease (subvalvular aortic stenosis, $N = 1$), and poor image quality ($N = 2$), resulting in a final study population of 26 dogs.

A total of 26 healthy, client-owned dogs were enrolled in the study. The study population included a variety of breeds, with Golden Retrievers ($n = 6$), American Pit Bull Terriers ($n = 4$), and American Bullies ($n = 7$) being the most represented. The sample comprised 13 males and 13 females, with a mean age of 3.95 ± 1.74 years and a mean body weight of 34.86 ± 9.81 kg (median: 4 years; 32.5 kg).

The mean volume of blood collected relative to body weight was 11.36 ± 3.23 mL/kg, ranging from 5.54 to 18.23 mL/kg. The interquartile range was 8.77 to 13.96 mL/kg, and the median was 11.23 mL/kg, indicating that all donations were within the recommended safety limits for canine blood donors.

After blood donation, a statistically significant reduction was observed in the maximum left atrial volume (Vol_max, $p = 0.0011$), left atrial ejection volume (LAEV, $p = 0.0000$), and left atrial

ejection fraction (LAEF, $p = 0.0003$). In contrast, minimum left atrial volume (Vol_min, $p = 1.0000$) and pre-atrial contraction volume (Vol_pa, $p = 0.0245$) remained unchanged, showing no significant variation following blood loss.

Regarding the three phases of strain, statistically significant reductions were observed in the median reservoir strain (StR_Median, $p = 0.0138$), mean contractile strain (StCT_Mean, $p = 0.0027$), and median contractile strain (StCT_Median, $p = 0.0027$) after blood donation. In contrast, the mean reservoir strain (StR_Mean, $p = 0.0554$), mean conduit strain (StCD_Mean, $p = 0.6042$), and median conduit strain (StCD_Median, $p = 0.7804$) did not show significant changes and remained stable after blood loss. Additional information is presented in Table 1 (descriptive statistics) and Table 2 (means, standard deviations, and p-values).

Table 1: Descriptive analysis of all variables at different time points (T0 and T1)

Variables	n	Mean	SD	Min	Q1	Median	Q3	Max	IQR
StR_meanT0 (%)	23	29.435	7.282	20.300	25.350	28.000	32.000	49.300	6.650
StR_meanT1 (%)	23	23.783	7.777	9.670	17.835	25.330	29.335	35.670	11.500
StR_medT0 (%)	23	29.435	6.768	20.000	25.500	28.000	31.000	49.000	5.500
StR_medT1 (%)	23	23.652	8.783	6.000	17.000	26.000	30.500	37.000	13.500
StCD_meanT0 (%)	23	-16.700	5.341	-25.300	-20.500	-17.300	-14.000	-3.700	6.500
StCD_meanT1 (%)	23	-14.740	5.579	-27.670	-18.000	-15.670	-12.165	-4.000	5.835
StCD_medT0 (%)	23	-16.304	5.103	-25.000	-19.500	-16.000	-13.500	-4.000	6.000
StCD_medT1 (%)	23	-14.565	6.888	-30.000	-19.500	-15.000	-11.000	-2.000	8.500
StCT_meanT0 (%)	23	-12.835	4.891	-23.700	-15.350	-13.000	-9.850	-4.300	5.500
StCT_meanT1 (%)	23	-9.014	4.489	-18.670	-10.330	-9.330	-6.000	-1.330	4.330
StCT_medT0 (%)	23	-13.087	5.342	-24.000	-16.000	-14.000	-10.000	-4.000	6.000
StCT_medT1 (%)	23	-9.261	5.056	-20.000	-12.000	-10.000	-6.000	-1.000	6.000
Vol_maxT0 (ml/kg)	26	0.676	0.236	0.308	0.526	0.630	0.787	1.173	0.261
Vol_maxT1 (ml/kg)	25	0.510	0.187	0.235	0.370	0.467	0.636	0.958	0.266
Vol_minT0 (ml/kg)	26	0.269	0.113	0.101	0.217	0.244	0.309	0.586	0.092
Vol_minT1 (ml/kg)	25	0.261	0.103	0.083	0.202	0.236	0.342	0.448	0.14
Vol_paT0 (ml/kg)	26	0.479	0.182	0.231	0.341	0.464	0.597	0.851	0.256
Vol_paT1 (ml/kg)	25	0.385	0.138	0.162	0.258	0.378	0.484	0.625	0.226
LAEV_T0 (ml/kg)	26	0.408	0.176	0.111	0.296	0.374	0.509	0.800	0.213
LAEV_T1 (ml/kg)	25	0.249	0.136	0.015	0.156	0.236	0.303	0.639	0.147
LAEF_T0 (%)	26	58.808	12.731	29.000	52.000	62.000	67.75	80.000	15.75
LAEF_T1 (%)	25	45.880	14.721	5.000	38.000	46.000	54.000	80.000	16.000

Legend: n = number of dogs, SD = standard deviation, Min = minimum, Max = maximum, Q1 = first quartile, Q3 = third quartile, IQR = interquartile range. T0 = before blood donation, T1 = immediately after donation. StR = reservoir strain, StCD = conduit strain, StCT = contractile strain. Vol_max = maximum left atrial volume, Vol_min = minimum left atrial volume, Vol_preA = pre-atrial contraction volume. LAEV = left atrial ejection volume, LAEF = left atrial ejection fraction.

In the subgroup of dogs that donated 10 mL/kg of blood, a significant reduction was observed in Vol_max ($p=0.0350$), LAEV ($p=0.0204$) and LAEF ($p=0.0204$). In contrast, Vol_min ($p=1.0000$) and Vol_pa ($p=0.4373$) remained stable after blood loss. Full results, including means, standard deviations, and p-values, are in Table 3. Regarding strain, StR_Mean ($p=0.0279$), StR_Median ($p=0.0149$), StCT_Mean ($p=0.0149$), and StCT_Median ($p=0.0149$) significantly decreased post-donation. StCD_Mean ($p=0.1377$) and StCD_Median ($p=0.2156$) showed no significant change.

Table 2: Comparison of the significance (p-values) of echocardiographic variables and their variation in blood donor dogs between T0 (before donation) and T1 (after donation).

Variables	T0	T1	p-value
Vol_max (mL/kg)	0.676 ± 0.236	0.510 ± 0.187	0.0011*
Vol_min (mL/kg)	0.269 ± 0.113	0.261 ± 0.103	1.0000
Vol_pa (mL/kg)	0.479 ± 0.182	0.385 ± 0.138	0.0825
LAEV (mL/kg)	0.408 ± 0.176	0.249 ± 0.136	0.0000*
LAEF (%)	58.808 ± 12.731	45.88 ± 14.72	0.0003*
StR_Mean (%)	29.43±7.28	23.78±7.77	0.0554
StR_Median (%)	29.43±6.76	23.65±8.78	0.0138*
StCD_Mean (%)	-16.70±5.34	-14.74±5.57	0.6042
StCD_Median (%)	-16.304±5.10	-14.565±6.88	0.7804
StCT_Mean (%)	-12.83±4.89	-9.014±4.48	0.0027*
StCT_Median (%)	-13.08±5.34	-9.26±5.05	0.0027*

Legend: T0 = before blood donation, T1 = immediately after donation. StR = reservoir phase strain, StCD = conduit phase strain, StCT = contractile phase strain, Vol_max = maximum left atrial volume, Vol_min = minimum left atrial volume, Vol_pa = pre-atrial contraction volume, LAEV = left atrial ejection volume, LAEF = left atrial ejection fraction. Comparisons between T0 and T1 were performed using the Friedman test. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Table 3: Comparison of the significance (p-values) of echocardiographic variables and their variation in the subgroup of blood donor dogs that donated ≥ 10 mL/kg of blood between T0 (before donation) and T1 (after donation).

Variables	T0	T1	p-value
Vol_max (mL/kg)	0.674 ± 0.248	0.497 ± 0.193	0.0350 *
Vol_min (mL/kg)	0.275 ± 0.135	0.258 ± 0.113	1.0000
Vol_pa (mL/kg)	0.498 ± 0.229	0.366 ± 0.141	0.4373
LAEV (mL/mg)	0.399 ± 0.179	0.239 ± 0.122	0.0204 *
LAEF (%)	58.176 ± 15.034	45.588 ± 15.322	0.0204 *
StR_Mean (%)	30.164 ± 8.267	23.423 ± 8.422	0.0279 *
StR_Median (%)	30.50 ± 7.501	23.600 ± 9.530	0.0149 *
StCD_Mean (%)	-16.900 ± 5.533	-14.378 ± 5.720	0.1377
StCD_Median (%)	-16.286 ± 5.355	-9.022 ± 4.845	0.2156
StCT_Mean (%)	-13.343 ± 5.421	-9.626 ± 5.423	0.0149 *
StCT_Median (%)	-13.714 ± 5.941	-9.467 ± 5.423	0.0149 *

Legend: T0 = before blood donation, T1 = immediately after donation. StR = reservoir phase strain, StCD = conduit phase strain, StCT = contractile phase strain, Vol_max = maximum left atrial volume, Vol_min = minimum left atrial volume, Vol_pa = pre-atrial contraction volume, LAEV = left atrial ejection volume, LAEF = left atrial ejection fraction. $n = 17$ for volumetric variables at both time points. And $n = 14$ for strain variables at T0 and $n = 15$ at T1. Comparisons between T0 and T1 were performed using the Friedman test. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

In the intra-day analysis, all echocardiographic variables showed coefficients of variation (CV%) below 15%, indicating low variability. In contrast, in the inter-day analysis, only StCD exceeded this threshold, with a CV of 24.31%, which is classified as moderate variability. Full values are presented in Table 4.

Table 4: Intra-day and inter-day coefficients of variation for echocardiographic variables and their respective classifications regarding intra-observer reproducibility.

Variable	Intra-day CV (%)	Inter-day CV (%)
Vol_max	6.03	3.57
Vol_pa	12.88	1.99
Vol_min	7.95	3.40
StR	7.00	10.98
StCD	14.08	24.31
StCT	13.95	12.10

Legend: CV = coefficient of variation; Classification according to Declodt et al. (2011): low (<15%), moderate (15–25%), and high (>25%).

Discussion

This study investigated the effects of acute preload reduction, induced by blood donation, on left atrial (LA) function in healthy dogs. A significant reduction was observed in Vol_max, LAEV, and LAEF following blood loss, while Vol_min and Vol_pa remained unchanged.

The preload-dependent behavior of the left atrium has also been investigated in humans using maneuvers such as *tilt testing* and continuous positive airway pressure (CPAP), which transiently reduce venous return. For instance, one study employing the tilt test [4], showed that both LA volumes and strain components significantly decreased with progressive tilting, although Vol_min remained unchanged at moderate inclination (40°), requiring a more marked preload reduction (80°) to decrease significantly. This pattern is consistent with our findings, in which Vol_min remained stable despite reductions in other volumes, indicating a certain resistance to mild-to-moderate preload changes.

The strain analysis also revealed important preload-related responses. In our full dataset, reservoir strain, as well as contractile strain decreased significantly, whereas conduit strain remained unchanged. These findings are similar to those of a previous study, where CPAP reduced StR but preserved StCT, suggesting that reservoir function is more preload-sensitive than the contractile phase in humans [5]. However, our study diverges by showing a significant reduction in StCT, indicating that even the contractile component of atrial strain may be affected under more pronounced preload reduction in dogs. This difference might reflect species-specific responses or a threshold effect related to the volume of blood removed.

Interestingly, Vol_min and conduit strain (StCD) were consistently preserved across our analyses, including in the subgroup of dogs donating ≥ 10 mL/kg. This contrasts with findings by Genovese et al. (2018) [4], where significant reduction in Vol_min required a steeper preload drop, reinforcing the notion that this parameter is less sensitive to moderate changes in venous return. Two studies evaluating the hemodynamic response to the passive leg raise (PLR) maneuver reported that significant effects on cardiac output variables were observed only in hypovolemic animals, not in normovolemic or hypervolemic ones. These findings suggest that volemic status critically influences preload responsiveness, and that a substantial blood volume removal (e.g., 28 mL/kg) may be required to elicit measurable changes in certain variables [8, 9]. Taken together, our findings confirm the preload dependency of most LA volumetric and strain parameters, with a few exceptions. This supports the concept that echocardiographic evaluation of atrial function must account for volume status and loading conditions, particularly when using load-sensitive markers such as Vol_max, LAEV, LAEF, reservoir strain and contractile strain.

One limitation of this study is the relatively small sample size, which may restrict the generalizability of the findings and reduce the power to detect subtle differences, particularly in variables with high interindividual variability. Nonetheless, the consistency of the results across both the full dataset and the ≥ 10 mL/kg subgroup provides internal validity to the main observations. Future studies with larger populations and formal sample size estimation are warranted to confirm and expand upon these preliminary findings. Additionally, incorporating different time points and alternative preload-modifying maneuvers, such as graded head-up tilt tests, may offer a broader assessment of preload responsiveness. This approach could allow for the inclusion of dogs weighing less than 20 kg, a population more commonly affected by myxomatous mitral valve disease [13].

In the intraobserver variability analysis, all variables showed coefficients of variation (CV) below 15%, indicating low variability according to the criterion proposed by Declodt et al. (2011) [12]. The highest intra-day CV was observed for conduit phase strain (StCD), at 14.08%. For inter-day CV, only StCD exceeded this threshold, showing moderate variability (24.31%). Compared to the results reported by Coelho et al. (2020) [6] in dogs with mitral valve disease and atrial dilation, the values in the present study were generally higher, particularly for volumetric parameters: CVs of 6.03% for Vol_max and 7.95% for Vol_min, versus 4.25% and 3.17% in Coelho et al. [6] respectively. Although still within an acceptable range, strain values were also higher: StR = 7.00% (vs. 3.18%), StCT = 13.95% (vs. 4.05%), and StCD = 14.08% (vs. 2.62%).

This discrepancy may be related to the fact that the dogs in the present study were healthy and had no atrial enlargement, which reduces the amplitude of deformation and may hinder strain calculation, particularly during phases with lower atrial wall motion. In contrast, atrial dilation in the dogs with mitral valve disease evaluated by Coelho et al. (2020) [6] may have facilitated speckle tracking and contributed to the lower variability observed in that study. Additionally, StCD is a derived variable calculated by subtracting the contraction strain from reservoir strain (StR – StCT), making it more susceptible to error propagation and inherently associated with lower myocardial deformation. These factors may explain its higher variability, which was also reported by Coelho et al. [6], with an interobserver CV of 24.47% for StCD.

Among the parameters analyzed, and as observed especially in the ≥ 10 mL/kg subgroup, Vol_min, Vol_pa, and conduit strain (StCD) appeared to be less dependent on preload, remaining stable after acute blood loss. These findings suggest that certain volumetric and strain variables may offer greater reliability for functional assessment under varying hemodynamic conditions and could serve as candidates for more load-independent clinical indices.

These results provide novel insights into canine atrial physiology, as few veterinary studies have examined the effects of acute preload changes on left atrial function in healthy animals. While studies in dogs with cardiac disease have described strain abnormalities associated with chronic volume overload [6, 7], the present model offers a controlled and ethical method to isolate preload effects. Blood donation as a hemodynamic model is advantageous in veterinary settings because it avoids pharmacologic or invasive methods and aligns with ethical principles, including the 3Rs [11]. Moreover, it highlights the utility of canine donors not only for clinical purposes but also for advancing cardiovascular research.

Conclusion

This study demonstrated that acute preload reduction, induced by blood donation in healthy dogs, significantly affected several left atrial volumetric and strain parameters, particularly Vol_max, LAEV, LAEF, and reservoir and contractile strain. In contrast, Vol_min, Vol_pa and conduit strain remained stable, suggesting relative preload independence. These findings confirm that most atrial functional indices are load-dependent and highlight the importance of considering

volume status when interpreting echocardiographic data. Furthermore, the blood donation model proved to be a reproducible, ethical, and non-invasive approach for studying hemodynamic responses in conscious animals. Given its simplicity, safety, and biological relevance, this model holds promise not only for veterinary research but also as a translational platform to advance non-invasive cardiovascular assessment across species.

Materials and methods

This prospective experimental study was approved by the Ethics Committee on Animal Use of São Paulo State University (UNESP), Botucatu campus (protocol 0360/2023), and complied with institutional and national guidelines for the care and use of animals. All procedures were performed in accordance with relevant regulations and the ARRIVE guidelines. Written informed consent was obtained from all owners.

Study objectives

This study had two main objectives. The first was to determine which echocardiographic indices of left atrial function, including volumetric and strain parameters, are less influenced by acute preload reduction in healthy dogs. The second was to evaluate whether healthy canine blood donors constitute a reliable experimental model for simulating acute hypovolemia, based on the analysis of hemodynamic variables obtained via transthoracic echocardiography.

Study population

The study was conducted in collaboration with a veterinary blood bank (Vetex Laboratório Veterinário, São Paulo, Brazil). All blood donations were pre-scheduled within a voluntary donor program and served as a natural, ethically acceptable method to induce acute blood loss. This approach enabled evaluation of hemodynamic responses to preload reduction without additional interventions, aligning with the 3Rs principles (reduction, replacement, and refinement) [11].

Inclusion criteria

Prior to each donation, dogs underwent a complete physical examination and clinical screening by the blood bank team. Inclusion criteria required that dogs be clinically healthy, without any signs of systemic illness or recent surgical procedures (within the last 30 days), and not pregnant or lactating. Females were considered eligible at least 45 days after the end of lactation. Dogs that had previously received blood transfusions were excluded. A complete vaccination history was submitted in advance, and fecal examinations were performed bimonthly. Only dogs with a body weight equal to or greater than 20 kg were included in the study. The volume of blood collected was calculated individually based on each animal's body weight, respecting the recommended limit of up to 20 mL/kg for canine blood donors.

Routine laboratory screening included complete blood count, serum urea, creatinine, alanine aminotransferase (ALT), and real-time PCR testing for blood-transmissible infections, including *Babesia* spp., *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Leishmania* spp., *Dirofilaria immitis*, and *Brucella* spp. Blood collections were scheduled with a minimum interval of 60 days between donations.

Exclusion criteria

Dogs were excluded if they presented with congenital cardiac anomalies, significant valvular regurgitation, or if echocardiographic image quality was deemed insufficient for analysis. Any dog failing to meet the inclusion criteria was also excluded from the study.

Echocardiographic Image Acquisition

Transthoracic echocardiography was performed using a GE Vivid IQ Premium ultrasound system equipped with a sector transducer (M5S-D) and simultaneous electrocardiographic monitoring. Examinations were performed at two time points: immediately before blood donation (T0) and immediately after blood donation (T1). At T0, a complete echocardiographic examination was conducted to confirm eligibility according to the exclusion criteria, in addition to acquiring the specific images used in the study [12]. All echocardiographic images were acquired by the same experienced operator, saved digitally, and analyzed offline using EchoPAC™ software (Version 204, GE Healthcare).

Volumetric measurements

Left atrial volumes were measured using the monoplane method of disks (MOD) from the apical four-chamber view (Figure 1). The maximum left atrial volume (Vol_max) was obtained at end-systole, just before mitral valve opening. The pre-atrial contraction volume (Vol_pa) was recorded at the onset of the P wave on the ECG, while the minimum left atrial volume (Vol_min) was measured at end-diastole, before mitral valve closure. All volume measurements were indexed by body weight and expressed in mL/kg. These volumes were used to calculate phasic volumetric indices, including left atrial ejection volume ($LAEV = Vol_{max} - Vol_{min}$), while ejection fraction ($LAEF = [Vol_{max} - Vol_{min} / Vol_{max}] \times 100$) was expressed as a percentage.

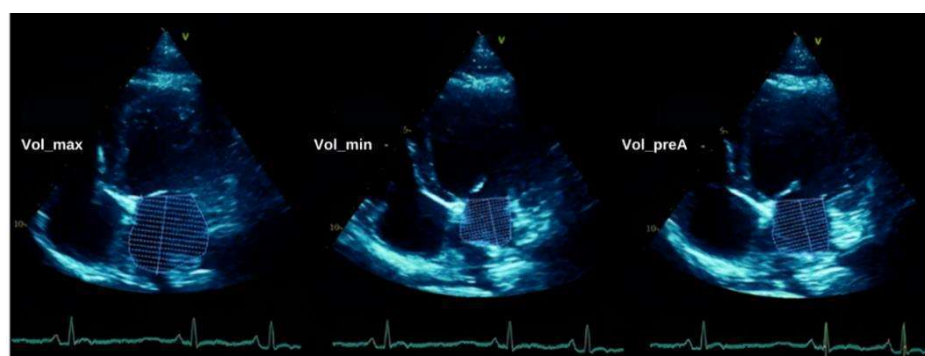


Figure 1: Left atrial (LA) volume measurement from the apical four-chamber view using the monoplane method of disks. The LA endocardial contour is traced along the inner atrial wall, excluding the pulmonary vein confluence and LA appendage. Vol_max: maximum LA volume (ventricular systole, end of the T wave on the ECG); Vol_min: minimum LA volume (near the end of the PR interval); Vol_preA: LA volume near the end of the P wave, indicating the onset of the active phase. Personal archive images.

Atrial strain analysis

Speckle-tracking echocardiography was performed using apical four-chamber images to assess atrial deformation (figure 2). The endocardial border of the left atrium was manually traced at end-systole. The software automatically tracked myocardial motion throughout the cardiac cycle, and the region of interest (ROI) was adjusted to match the thinnest atrial wall segment. The atrium was divided into six segments, and global average strain was calculated.

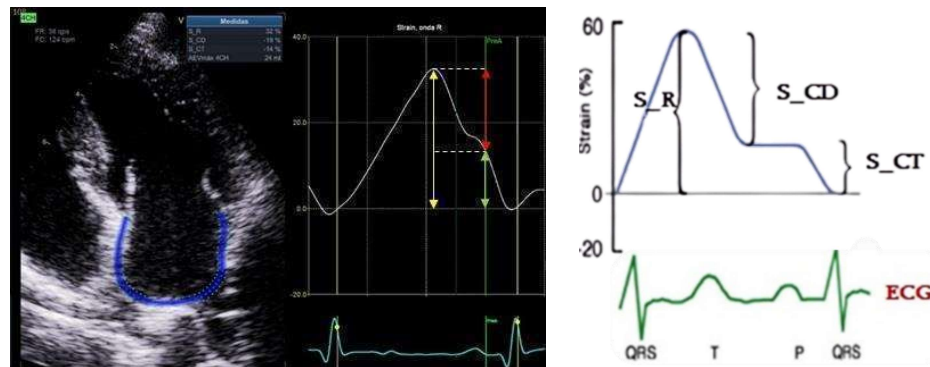


Figure 2: Apical four-chamber echocardiographic view (left) showing the region of interest (ROI) from the author's personal archive, alongside the corresponding left atrial strain curve (right). The reference point was set at the beginning of the R wave on the ECG. (A) Total global strain (S_R = reservoir strain) and late global strain (S_{CT} = active phase strain) during atrial contraction. Conduit function is defined as the difference between S_R and S_{CT} . (B) Strain phases related to the ECG (right), adapted from GAN et al., 2020. [13]

The reservoir phase strain (StR) was defined as the peak positive deflection following the R wave, corresponding to atrial filling during ventricular systole. The contractile strain ($StCT$) was measured immediately after the P wave, reflecting active atrial contraction. The conduit strain ($StCD$), which represents passive ventricular filling during early diastole, was automatically calculated by the software as the difference between StR and $StCT$. Strain measurements were performed three times per time point and averaged to improve reproducibility. Automated strain analysis was not accepted without operator adjustments, including selection of the smallest feasible ROI, exclusion of pulmonary veins, and manual selection of atrial segments.

Statistical analysis

Data were organized in Microsoft Excel and subsequently analyzed using R software (R Core Team, 2024. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at: <https://www.R-project.org/>). The distribution of the data was assessed using the Shapiro–Wilk test. Descriptive statistics were calculated, including mean, standard deviation, median, and interquartile range. Categorical data were expressed as percentages. Comparisons between pre-donation (T0) and post-donation (T1) time points were performed using the Friedman test for repeated measures. A p-value of < 0.05 was considered statistically significant.

To assess the impact of blood loss magnitude, a secondary analysis included only dogs that donated ≥ 10 mL/kg, a volume within the recommended safe range for canine donors. This aimed to ensure more homogeneous and clinically relevant hemodynamic responses. The same statistical methods were applied.

Finally, intraobserver variability of the echocardiographic measurements was assessed through intra-day and inter-day analyses using the coefficient of variation (CV), calculated exclusively for variables directly obtained from the images. Analyses were performed in 7 dogs, corresponding to approximately 30% of the sample, following the methodology previously described by Decloedt et al. (2011) [12]. CV values were classified as indicative of low (<15%), moderate (15–25%), or high (>25%) variability.

The primary aim was to assess the impact of acute preload reduction on left atrial phasic function using strain and volumetric parameters. The analysis also explored whether certain echocardiographic variables were less preload-dependent and whether blood donor dogs could represent a viable non-invasive model for hemodynamic studies in awake animals.

REFERENCES

- [1] Matsumoto, A. Y., Mancuso, F. J. N., Tatani, S. B., Machado, C. V., Hotta, V. T. & Moisés, V. A. Echocardiographic evaluation of left atrial function: physiological and clinical aspects. *Arq. Bras. Cardiol. - Imagem Cardiovasc.* **27**, 87–96 (2014).
- [2] Marino, P. N., Degiovanni, A. & Zanaboni, J. Complex interaction between the atrium and the ventricular filling process: the role of conduit. *Open Heart* **6**, e001042 (2019).
- [3] Blume, G. G. et al. Left atrial function: physiology, assessment, and clinical implications. *Eur. J. Echocardiogr.* **12**, 421–430 (2011).
- [4] Genovese, D. et al. Load dependency of left atrial strain in normal subjects. *J. Am. Soc. Echocardiogr.* **31**, 1221–1228 (2018).
- [5] Gottfridsson, P. et al. Left atrial contraction strain and controlled preload alterations, a study in healthy individuals. *Cardiovasc. Ultrasound* **20**, 4–9 (2022).
- [6] Coelho, M. R. et al. Evaluation of left atrial function in asymptomatic dogs with chronic myxomatous mitral valve disease: two-dimensional feature-tracking echocardiography and Simpson's monoplanar methods. *Pesq. Vet. Bras.* **40**, 188–196 (2020).
- [7] Savarino, P. et al. Left atrial volume and function in Cavalier King Charles Spaniels at different ACVIM stages. *Res. Vet. Sci.* **180**, 105428 (2024).
- [8] Paranjape, V. V., Henao-Guerrero, N., Menciotti, G. & Saksena, S. Volumetric evaluation of fluid responsiveness using a modified passive leg raise maneuver during experimental induction and correction of hypovolemia in anesthetized dogs. *Vet. Anaesth. Analg.* **50**, 211–219 (2023).
- [9] Paranjape, V. V., Henao-Guerrero, N., Menciotti, G. & Saksena, S. Performance of four cardiac output monitoring techniques vs. intermittent pulmonary artery thermodilution during a modified passive leg raise maneuver in isoflurane-anesthetized dogs. *Front. Vet. Sci.* **10**, 1238549 (2023).

- [10] Marshall, K. A., Thomovsky, E. J., Brooks, A. C., Johnson, P. A., Lim, C. K. & Heng, H. G. Ultrasound measurements of the caudal vena cava before and after blood donation in 9 greyhound dogs. *Can. Vet. J.* **59**, 973–980 (2018).
- [11] Tréz, T. A. Considerações sobre o conceito dos 3Rs e o potencial conflito com novas compreensões do animal experimental. *Rev. Bras. Zootecias* **19**, 97–113 (2018).
- [12] Decloedt, A., Verheyen, T., Sys, S., De Clercq, D. & van Loon, G. Quantification of left ventricular longitudinal strain, strain rate, velocity, and displacement in healthy horses by 2-dimensional speckle tracking. *J. Vet. Intern. Med.* **25**, 330–338 (2011).
- [13] Keene, B. W. *et al.* ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* **33**, 1127–1140 (2019).

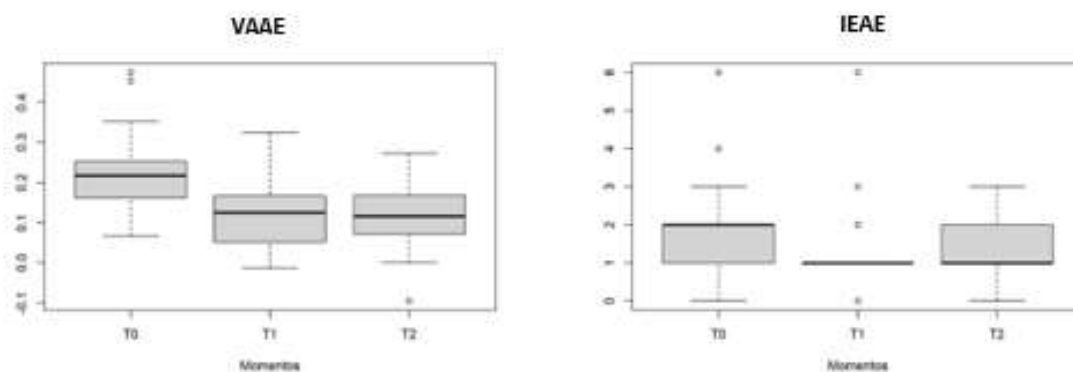
Data Availability Statement: The datasets generated and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Author Contributions: Conceptualization, R.B.C. and M.L.G.L.; methodology, R.B.C.; investigation, R.B.C.; formal analysis, M.H.T.; data curation, R.B.C.; writing—original draft preparation, R.B.C.; writing—review and editing, R.B.C., M.L.G.L., R.F. and C.J.L.R.; supervision, M.L.G.L.; statistical interpretation, R.B.C.; statistical analysis, M.H.T. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

FIGURA C - Gráficos boxplots das Variáveis Ecocardiográficas dos Animais do Estudo (continuação).



Legenda: Vel_MAX e Vel_MIN = velocidades máxima e mínima no aórtico; Δ Vel = variação percentual da velocidade; VTI_MAX e VTI_MIN = integrais tempo-velocidade máxima e mínima; Δ VTI = variação percentual do VTI; StR = strain da fase reservatório do átrio esquerdo; StCD = strain da fase de condução; StCT = strain da fase de contração; CSI = índice de contratilidade do strain (StCT/StR); FEAE = fração de esvaziamento total; FPAE = fração de esvaziamento passivo; FAAE = fração de esvaziamento ativo; IEAE = índice de expansão do átrio esquerdo ; Vol_max, Vol_min e Vol_pa = volumes máximo, mínimo e pré-onda A do átrio esquerdo (mL/kg); VAEj = volume ejetado total; VPAE = volume ejetado passivo; VAAE = volume ejetado ativo

ANEXO D

FIGURA D - Gráficos boxplots das variáveis ecocardiográficas do subgrupo de animais do estudo.

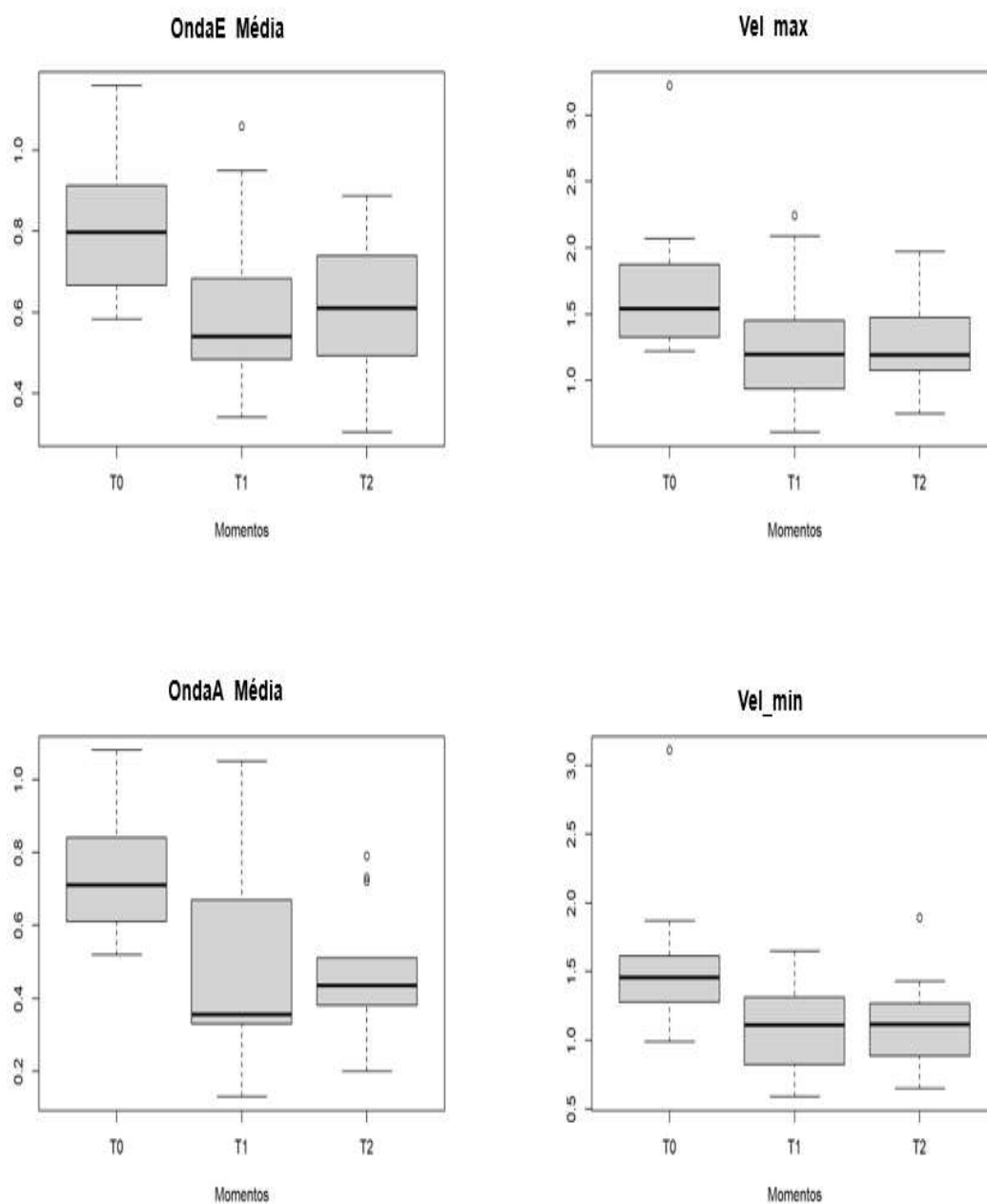


FIGURA D - Gráficos boxplots das variáveis ecocardiográficas do subgrupo de animais do estudo (continuação).

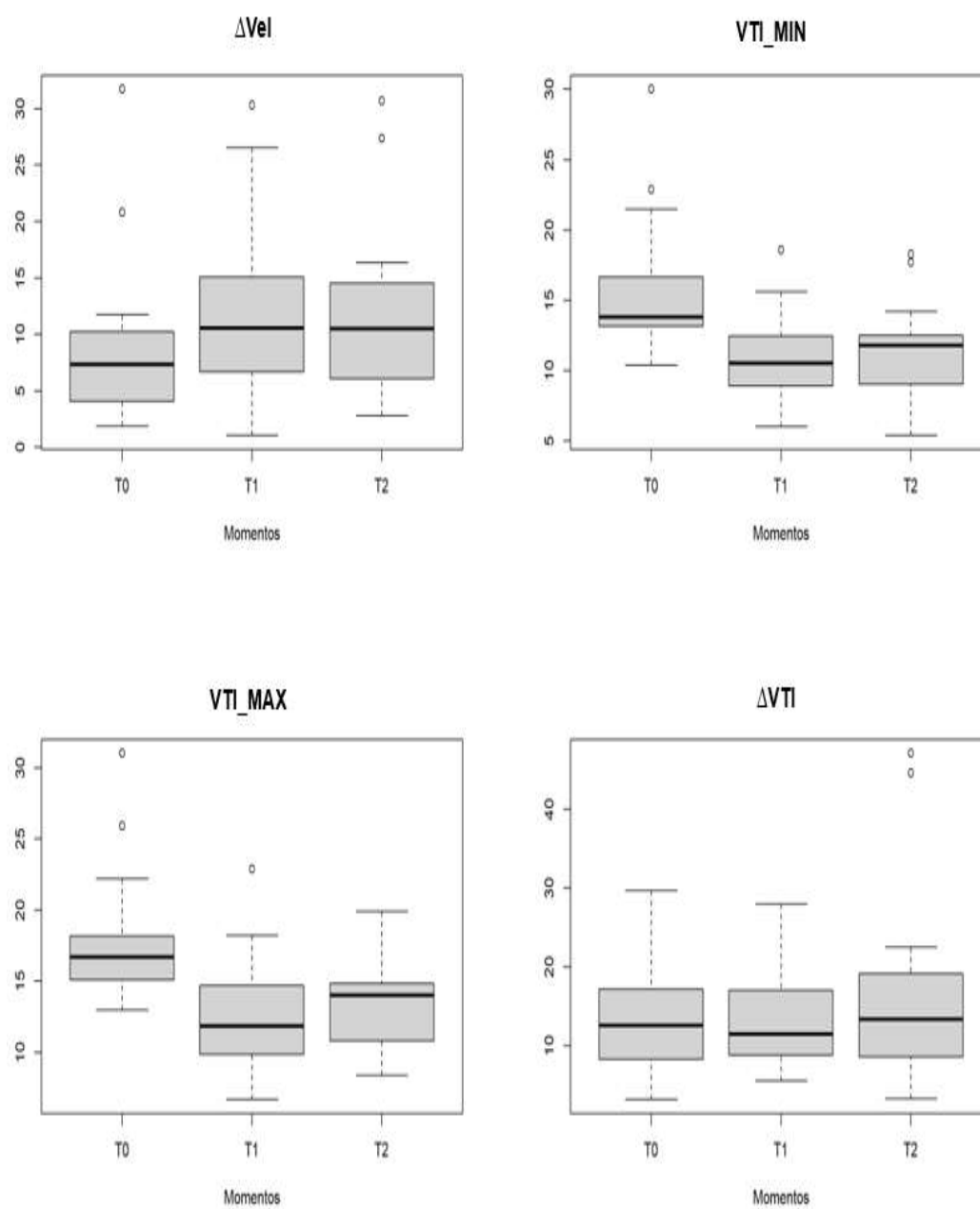


FIGURA D - Gráficos boxplots das variáveis ecocardiográficas do subgrupo de animais do estudo (continuação).

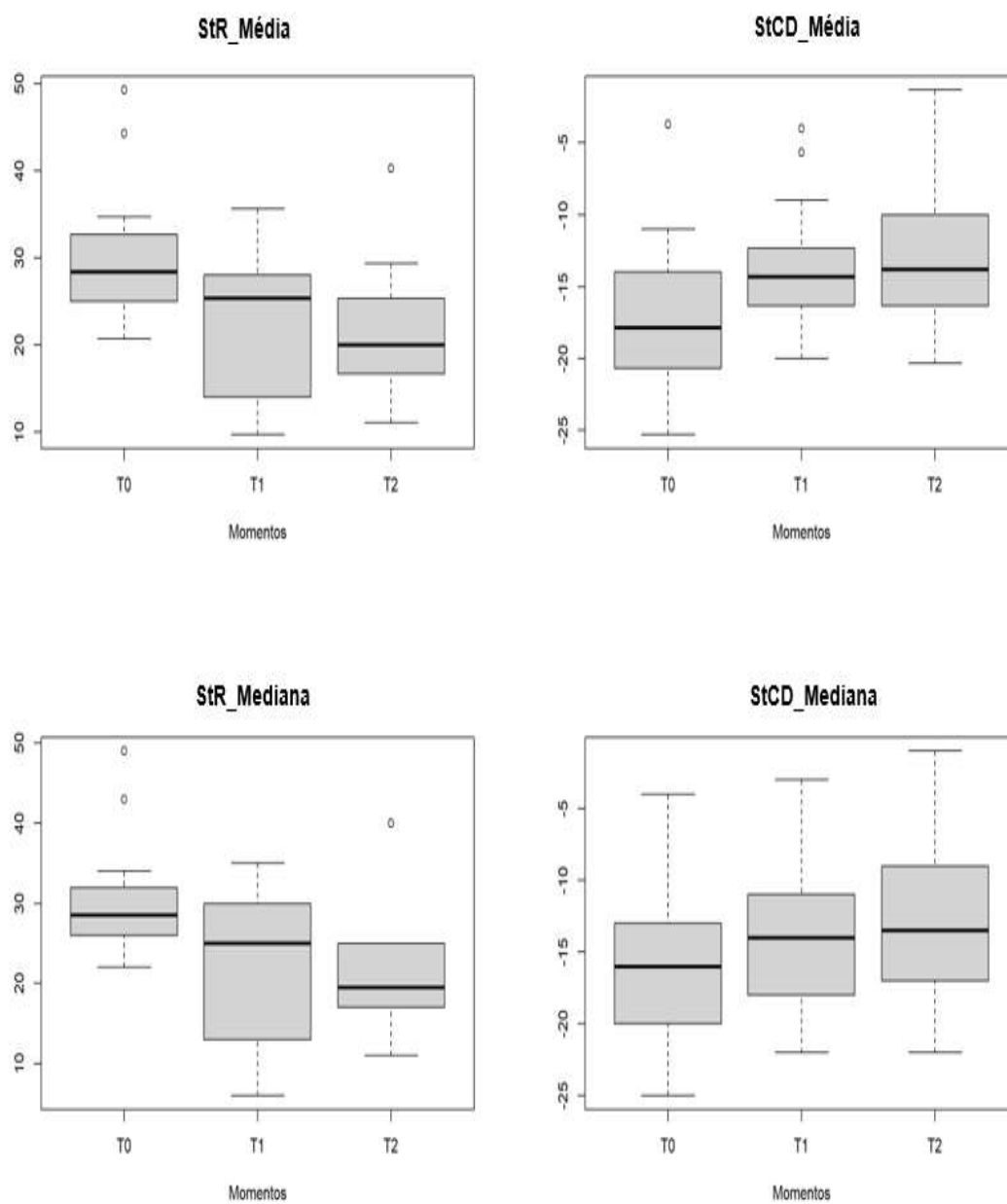


FIGURA D - Gráficos boxplots das variáveis ecocardiográficas do subgrupo de animais do estudo (continuação).

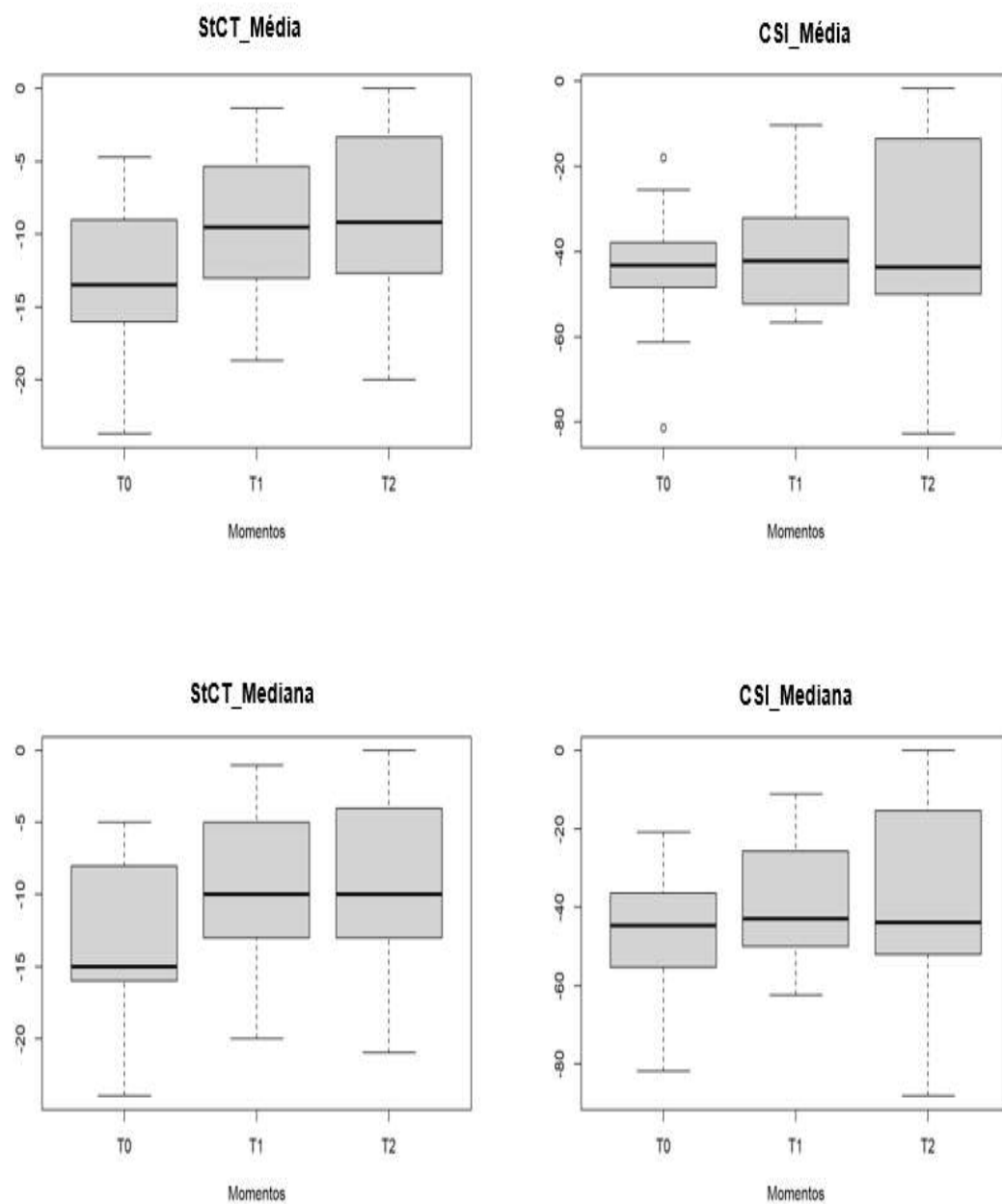


FIGURA D - Gráficos boxplots das variáveis ecocardiográficas do subgrupo de animais do estudo (continuação).

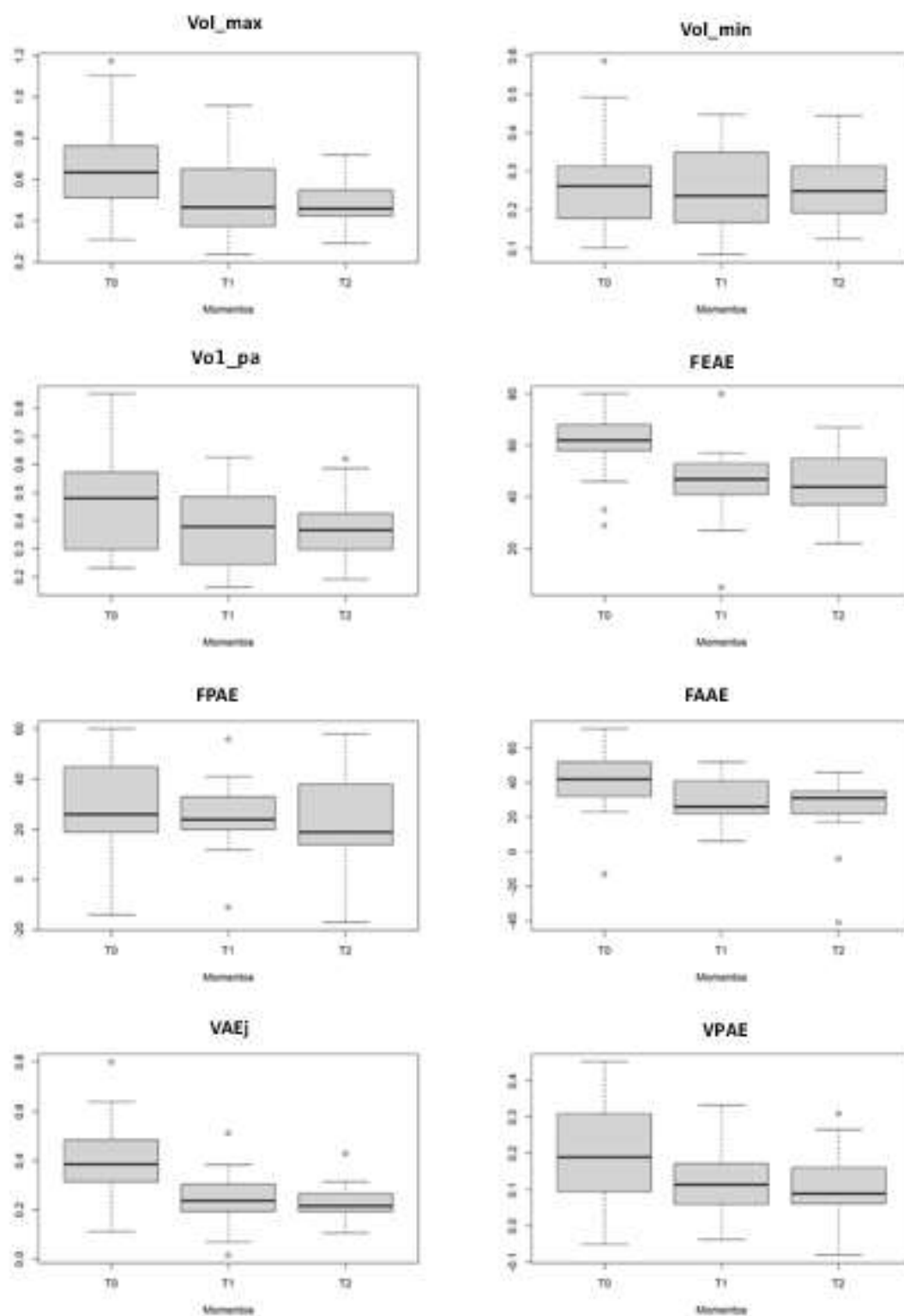
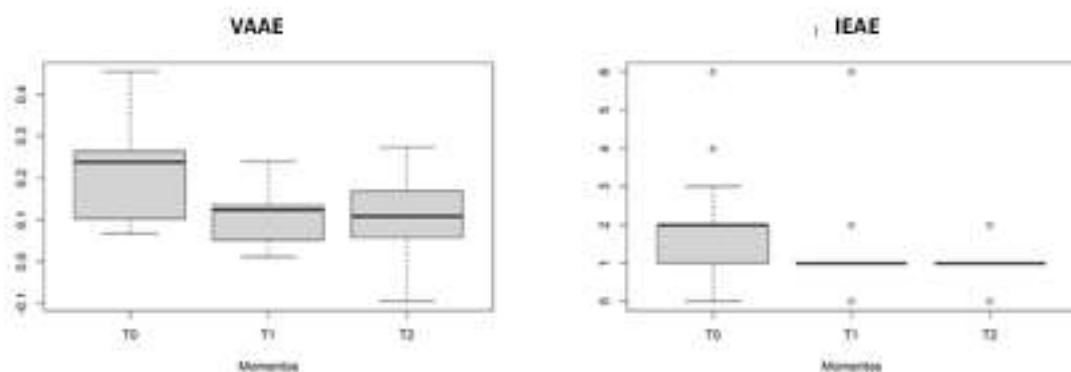


FIGURA D - Gráficos boxplots das variáveis ecocardiográficas do subgrupo de animais do estudo (continuação).



Legenda: Vel_MAX e Vel_MIN = velocidades máxima e mínima no aórtico; Δ Vel = variação percentual da velocidade; VTI_MAX e VTI_MIN = integrais tempo-velocidade máxima e mínima; Δ VTI = variação percentual do VTI; StR = strain da fase reservatório do átrio esquerdo; StCD = strain da fase de condução; StCT = strain da fase de contração; CSI = índice de contratilidade do strain (StCT/StR); FEAE = fração de esvaziamento total; FPAE = fração de esvaziamento passivo; FAAE = fração de esvaziamento ativo; IEAE = índice de expansão do átrio esquerdo; Vol_max, Vol_min e Vol_pa = volumes máximo, mínimo e pré-onda A do átrio esquerdo (mL/kg); VAEj = volume ejetado total; VPAE = volume ejetado passivo; VAAE = volume ejetado ativo

ANEXO E

Figura E: Comparação da significância (valor p) dos parâmetros ecocardiográficos em todos os cães entre os momentos T0 (antes da doação), T1 (após a doação) e T2 (após EPMP).

Variável	Valor p	T0 x T1	T0 x T2	T1 x T2
OndaE_Media	0,0093	0,0097	0,1185	1,0000
OndaA_Media	0,0001	0,0000	0,0027	0,9886
Vel_max	0,0000	0,0000	0,0006	1,0000
Vel_min	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000
ΔVel	0,4317	0,6924	1,0000	1,0000
VTI_MAX	0,0000	0,0000	0,0006	0,8722
VTI_MIN	0,0000	0,0000	0,0001	0,8722
ΔVTI	0,8869	1,0000	1,0000	1,0000
StR_Media	0,0062	0,0554	0,0082	1,0000
StR_Mediana	0,0000	0,0138	0,0000	0,4585
StCD_Media	0,0706	0,6042	0,0835	1,0000
StCD_Mediana	0,0739	0,7804	0,0835	0,9886
StCT_Media	0,0005	0,0027	0,0014	1,0000
StCT_Mediana	0,0007	0,0027	0,0048	1,0000
CSI_Média	0,7275	1,0000	1,0000	1,0000
CSI_Mediana	0,5796	1,0000	1,0000	1,0000
FEAE	0,0003	0,0003	0,0059	1,0000
FPAE	0,7768	1,0000	1,0000	1,0000
FAAE	0,0002	0,0011	0,0006	1,0000
IEAE	0,0003	0,0059	0,0562	1,0000
Vol_max	0,0002	0,0011	0,0006	1,0000
Vol_min	0,6926	1,0000	1,0000	1,0000
Vol_pa	0,0353	0,0825	0,0825	1,0000
VAEj	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000
VPAE	0,2276	0,4141	0,5402	1,0000
VAAE	0,0011	0,0020	0,0059	1,0000

Abreviações: T0 = antes da doação, T1 = imediatamente após a doação, T2 = um minuto após a manobra de elevação passiva modificada dos membros pélvicos (EPMP). Onda E = velocidade do fluxo mitral passivo, Onda A = velocidade do fluxo mitral ativo, Vel_max = velocidade máxima do fluxo aórtico, Vel_min = velocidade mínima do fluxo aórtico, VTI_MAX = integral velocidade tempo máxima, VTI_MIN = integral velocidade-tempo mínima, ΔVel = variabilidade da velocidade do fluxo aórtico, ΔVTI = variabilidade da integral velocidade-tempo, StR = strain na fase de 29 reservatório, StCD = strain na fase de conduíte, StCT = strain na fase contrátil, CSI = índice de strain na contração atrial, Vol_max = volume máximo do átrio esquerdo, Vol_min = volume mínimo do átrio esquerdo, Vol_preA = volume pré-contração atrial, VAEj = volume de ejeção do átrio esquerdo, FEAE = fração de ejeção do átrio esquerdo, VPAE = volume de ejeção passiva do átrio esquerdo, FPAE = fração de ejeção passiva do átrio esquerdo, VAAE = volume de ejeção ativa do átrio esquerdo, FAAE = fração de ejeção ativa do átrio esquerdo, IEAE_média e IEAE_med = Índice de expansão do átrio esquerdo (média e mediana, respectivamente). * p < 0,05 indica diferença estatística.