

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

PARÂMETROS ECOCARDIOGRÁFICOS E VARIABILIDADE DA
FREQUÊNCIA CARDÍACA EM OVINOS DA RAÇA DORPER NO PERÍODO
PERINATAL

AMANDA SARITA CRUZ ALEIXO

Botucatu-SP

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

PARÂMETROS ECOCARDIOGRÁFICOS E VARIABILIDADE DA
FREQUÊNCIA CARDÍACA EM OVINOS DA RAÇA DORPER NO PERÍODO
PERINATAL

Tese apresentada junto ao Programa
de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária para obtenção do título de
Doutora.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Lucia
Gomes Lourenço

Nome do Autor: Amanda Sarita Cruz Aleixo

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Aleixo, Amanda Sarita Cruz.
Parâmetros ecocardiográficos e variabilidade da frequência
cardíaca em ovinos da raça dorper no período
perinatal / Amanda Sarita Cruz Aleixo. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Maria Lucia Gomes Lourenço
Capes: 50501062

1. Cordeiros. 2. Gravidez. 3. Neonatologia veterinária.
4. Ovelha. 5. Variabilidade do batimento cardíaco.

Palavras-chave: cordeiros; gestação; neonatal; ovelhas;

Título: PARÂMETROS ECOCARDIOGRÁFICOS E VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA EM OVINOS DA RAÇA DORPER NO PERÍODO PERINATAL

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Ass. Dr^a. Maria Lucia Gomes Lourenço

Presidente e Orientadora

Departamento de Clínica Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu–SP

Prof. Ass. Dr. Simone Biagio Chiacchio

Membro Titular

Departamento de Clínica Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu–SP

Prof. Ass. Dr. José Paes de Oliveira Filho

Membro Titular

Departamento de Clínica Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu–SP

Prof. Dr. Marlos Gonçalves Sousa

Membro Titular

Departamento de Medicina Veterinária

Universidade Federal do Paraná – UFPR – Curitiba–PR

Prof. Dr. Moacir Fernandes de Godoy

Membro Titular

Departamento de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular

Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP – São José do Rio Preto–SP

Data da defesa: 08 de outubro de 2019.

DEDICATÓRIA

Dedico essa tese de doutorado aos meus pais Valdir Cruz e Nilsa Therezinha Putti Cruz, às minhas irmãs Érica Marcelina Cruz e Adriana Regina Cruz, aos meus sobrinhos Henrique, Ana Luísa e Júlia, ao meu marido Edward Victor Aleixo e à minha orientadora Maria Lucia Gomes Lourenço.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus e Nossa Senhora Aparecida pela força e por me iluminarem não só neste momento da minha vida mas como em toda caminhada profissional e pessoal. Nas horas de desespero e decepções a minha fé e devoção me fez sempre enxergar a luz que eu precisava para que hoje eu pudesse chegar aqui. Todas as vezes que eu pedi proteção e força eles me proporcionaram o que eu precisava.

Agradeço aos meus pais Valdir Cruz e Nilsa Therezinha Putti Cruz pelo amor incondicional que sempre me proporcionaram, por me apoiarem em todas as minhas decisões e que mesmo em todas as dificuldades financeiras e pessoais que enfrentamos desde o início da minha graduação, onde se iniciava o sonho de ser Médica Veterinária, vocês sempre se dedicaram ao máximo para que eu pudesse chegar até aqui. Agradeço por todos os conselhos e por sempre se prestarem ao diálogo para que eu pudesse seguir em frente em meio aos meus medos e incertezas. Agradeço por terem sempre me mostrado o caminho certo e por me ensinarem a ser uma pessoa melhor, acreditar que o bem sempre é a melhor opção e por terem me proporcionado esse amor incondicional para que eu pudesse me tornar uma pessoa digna, principalmente para cuidar com amor e carinho dos animais. Não sei se consegui ser um pouco talvez do que vocês esperavam, e peço desculpas pelas minhas falhas. Sempre quis que vocês se orgulhassem de mim pois sei o quanto vocês batalharam para que eu e minhas irmãs pudéssemos ao menos ter um diploma, que a final sempre foi o sonho de vocês, mas prometo continuar buscando sempre o melhor caminho e me esforçar para tentar ser melhor como pessoa e como profissional. Muito obrigada! Amo vocês incondicionalmente!

Agradeço às minhas irmãs Érica Marcelina Cruz e Adriana Regina Cruz por todo amor e companheirismo que sempre dedicaram à mim, por sempre me apoiarem e me aconselharem nos meus desesperos, por me ajudarem profissionalmente e pessoalmente e por sempre estarem ao meu lado. Peço desculpas pela minhas falhas e por me ausentar em alguns momentos do convívio com vocês para que eu pudesse chegar até aqui, mas saibam que sempre estaremos juntas. Obrigada pelo apoio emocional e financeiro, mas acima de tudo por sermos sempre unidas. Amo vocês!

Agradeço aos meus sobrinhos Henrique, Ana Luísa e Júlia por terem me proporcionado a oportunidade de aprender constantemente com vocês, por poder saber e sentir o que é esse amor de tia e por me fazer enxergar que a vida realmente é passageira, afinal todas as vezes que me privei de estar com vocês para me dedicar à vida profissional eu percebia que vocês já haviam crescido e eu sempre me surpreendia com as mudanças que eu enxergava em vocês. Peço desculpas por não ter feito muito mais por vocês mas saibam que os amo incondicionalmente!

Agradeço ao meu marido Edward Victor Aleixo por ter me apoiado desde o início da minha caminhada profissional, por estar ao meu lado, por sempre se dedicar a nós, pela paciência, pelo companheirismo e pela cumplicidade. Sei que me ausentei muitas vezes e que deixei de fazer coisas por nós dois para estar aqui, mas saiba que sempre foi para que eu pudesse sempre somar e nunca subtrair em nossas vidas. Obrigada por me apoiar incondicionalmente emocionalmente e financeiramente, pois desde o começo você nunca hesitou em me ajudar e em entender os momentos difíceis. Muito obrigada por estar sempre comigo e pelo nosso casamento!

Agradeço ao meu sogro Edward Aleixo e à minha sogra Ivani Ferracini Aleixo por estarem ao nosso lado, mesmo que em meio à uma longa distância, mas sempre nos aconselhando e nos ajudando à construir uma família estruturada, com alicerce. Sei que também nos privamos de momentos juntos que poderíamos ter nos deslocado para estarmos com vocês, mas saibam que foi por nos dedicarmos profissionalmente e por tentarmos ser e proporcionar talvez um dia para nossos filhos um pouco do que vocês e meus pais são e proporcionaram à nós como filhos. Muito obrigada!

Agradeço à minha orientadora, Maria Lucia Gomes Lourenço, primeiramente pela oportunidade de fazer parte da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FMVZ-UNESP, Botucatu, por meio da pós-graduação, por ter me proporcionado a oportunidade de chegar até aqui e estar concretizando esse sonho que eu sempre almejei. Agradeço por ter acreditado em mim e sempre me incentivado, mesmo quando nem eu mesma acreditava que eu pudesse conseguir. Agradeço pela confiança, pela paciência em meio as minhas dificuldades e por todos esses quatro anos juntas, afinal não só como orientadora mas como pessoa, pois foram muitas conversas e desabafos que

iam além da vida profissional. Obrigada por todo o conhecimento adquirido, por toda experiência profissional e pessoal e por nunca desistir de mim. Obrigada por ter me proporcionado o mundo da Cardiologia Veterinária, onde mesmo em uma reunião quando eu iniciei minha trajetória na pós-graduação, quando eu disse que meus conhecimentos em cardiologia eram limitados a senhora acreditou em mim e disse, como nunca vou esquecer, que eu conseguiria. Se eu cheguei até aqui foi porque a senhora sempre me incentivou, foi meu alicerce e acreditou em mim. Agradeço pelo apoio e confiança na Cardiologia Equina, pois quando iniciamos o serviço na instituição sei que não foi fácil, mas para mim foi extremamente gratificante fazer parte de tudo isso. Espero poder ter contribuído positivamente para o Serviço de Cardiologia da FMVZ-Unesp, Botucatu. Saiba que pode contar comigo. Não poderia deixar de registrar aqui que tenho um carinho enorme e admiração pela pessoa e profissional que és. Muito obrigada!

Agradeço ao professor Simone Biagio Chiacchio, por ter me concedido a oportunidade de estar aqui, pela confiança e por sempre me apoiar nessa caminhada. Obrigada por todos os conhecimentos proporcionados, pela dedicação ao meu projeto, por todas as vezes que eu desesperada me dirigia ao senhor para resolver meus problemas e questões do projeto, o senhor sempre esteve ali e resolvia não medindo esforços para tal. Muito obrigada!

Agradeço ao professor José Paes de Oliveira Filho, pelo aceite do convite em fazer parte desta banca, por ter me proporcionado a oportunidade de participar do serviço de Clínica Médica de Grandes Animais através da Cardiologia. Agradeço pela paciência e oportunidade, por ter disponibilizado os equipamentos da Clínica de Grandes Animais, bem como por todas as vezes que solicitei auxílio de funcionários, estagiários e residentes, o senhor sempre contribuiu. Obrigada por me proporcionar o convívio com os grandes animais, pois era algo que me faltava e uma paixão que sempre esteve em mim além dos pequenos animais. Muito obrigada.

Agradeço a professora Thaís Gomes Rocha e ao professor Rogério Martins Amorim também por contribuir com a execução desse projeto. Foram equipamentos, funcionários e estagiários disponibilizados, os quais sei que se ausentaram da rotina clínica para contribuir com o meu projeto. Agradeço por tudo e pela paciência pois devido à extensão do projeto foi uma longa caminhada de assinaturas e permissões concedidas. Agradeço também pela oportunidade

de trabalhar com a cardiologia em grandes animais no serviço de Clínica Médica de Grandes Animais. Muito obrigada!

Agradeço ao professor da Universidade de Marília – UNIMAR, Rodrigo Prevedello Franco por ter acreditado em mim durante a residência, por me incentivar e auxiliar na cardiologia, pela paciência, pelos conhecimentos adquiridos e por ter contribuído positivamente na minha vida profissional. Muito obrigada!

Agradeço ao professor Moacir Fernandes de Godoy pelo aceite do convite em participar desta banca, pelos conhecimentos proporcionados desde o mestrado, por prontamente nos receber e nos auxiliar com excelência nos trabalhos realizados com Variabilidade da Frequência Cardíaca. Muito obrigada por estar conosco!

Agradeço ao professor Marlos Gonçalves Sousa pelo aceite do convite em participar desta banca, por todos os conhecimentos proporcionados com excelência durante a minha trajetória na Cardiologia, por contribuir significativamente na minha vida profissional, pois além da cardiologia em pequenos animais, o senhor também contribui com ênfase na trajetória com grandes animais, em especial na Cardiologia Equina. Gostaria de deixar registrado aqui a importância que tens nesse sonho, pois quando iniciei a execução do ecocardiograma em equinos na instituição com o apoio e incentivo de minha orientadora e preceptora, eu pensei por várias vezes que eu não conseguiria e que isso não daria certo. Foi quando eu vi que o senhor executava esse trabalho e que sim, seria possível. Realmente para mim és inspiração. Muito obrigada!

Agradeço imensamente à residente de Clínica Médica de Grandes Animais, na época, Ana Luísa Holanda de Albuquerque pelo aceite em participar do projeto, por sempre estar presente e por contribuir em toda a extensão do mesmo. Por ter se disponibilizado em todos os momentos, por me auxiliar, por me apoiar, pela dedicação e responsabilidade com o projeto. Por contribuir de todas as formas com a execução do projeto. Agradeço pela profissional que és e pela responsabilidade com que me auxiliou para que esse trabalho pudesse ter se concretizado. Muito obrigada!

Agradeço ao residente de Clínica Médica de Grandes Animais, na época, Raphael Tortorelli Teixeira pelo aceite em participar do projeto e por todo auxílio e contribuição prestada. Obrigada!

Agradeço aos residentes da Clínica Médica de Grandes Animais Luiza Stachewski Zakia, Lukas Garrido Albertino, Pedro Negri Bernardino, que contribuíram com o andamento do projeto auxiliando no meu treinamento com os animais, coletas, organizando a disponibilidade dos estagiários, enfim foram inúmeras formas de contribuição em todas as vezes que eu precisei. Muito obrigada!

Agradeço aos funcionários Marquinho (Clínica de Grandes Animais), Marcão e Luís (Clínica de Pequenos Animais) por todo auxílio em todos os momentos que eu precisei durante minha trajetória na pós-graduação. Sempre dispostos e dedicados. Muito obrigada!

Agradeço à minha amiga Mayra de Castro Ferreira Lima, que desde o meu momento de desespero da parição das ovelhas esteve comigo. Sei que você abdicou dias da sua vida profissional e pessoal para ficarmos uma semana sem dia e hora ou contato com o mundo alheio para estar comigo nas coletas. Obrigada por todo apoio e força, mesmo quando eu pensei em desistir durante a coleta pela exaustão emocional e física, pelas palavras naquele momento que fizeram a diferença. Muito obrigada!

Agradeço à minha amiga Renata Alves de Paula e à Marina Cecília Grandi por se deslocarem de outra cidade para me auxiliar nas coletas e por todos os bons momentos juntas. Obrigada!

Agradeço imensamente à professora Miriam Harumi Tsunemi pela dedicação às minhas análises estatísticas, pelo profissionalismo e pela grande pessoa que és. Agradeço pelas conversas sempre positivas e também por ter me auxiliado com toda a delicadeza tornando o trabalho mais leve, mesmo em meus momentos de desespero. Muito obrigada!

Agradeço às pós-graduandas, na época, Raíssa Karolliny Salgueiro Cruz e à Carla Maria Vela Ulian pelo auxílio e apoio quando iniciei minha trajetória na instituição em 2015. Por me incentivarem e por acreditarem em mim. Muito obrigada!

Agradeço aos professores da Clínica Médica de Pequenos Animais Luiz Henrique de Araújo Machado, Alessandra Melchert e Priscylla Tatiana Chalfun

Guimaraes Okamoto por todos esses anos de convivência, pelas oportunidades concedidas e pelos conhecimentos proporcionados. Obrigada!

Agradeço à todos os estagiários que passaram pela Clínica Médica de Grandes Animais durante a extensão do projeto e que participaram do mesmo; e à todos os funcionários que direta ou indiretamente contribuíram para que o trabalho pudesse ter se concretizado. Obrigada!

Agradeço à todos os funcionários da pós-graduação pelo auxílio prestado em todos esses anos, pelos esclarecimentos e contribuições com a minha formação e à pós-graduação da FMVZ-UNESP, Botucatu. Obrigada!

Agradeço à CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelas bolsas concedidas durante o mestrado e doutorado e à FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo auxílio pesquisa concedido, processo número 2017/15121-9. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Agradeço imensamente ao Sr. Luiz Otávio Roma, proprietário do Sítio Vale Verde, cabanha Estrela do Vale, pela concessão do local e dos animais para que esse projeto pudesse ter sido executado. Obrigada pela paciência pois sei que foram longos dias que comprometi a rotina do estabelecimento. Agradeço aos funcionários, Wagner, Gabriel e Gustavo por todo auxílio prestado durante as coletas e pela disponibilidade. Muito obrigada.

Agradeço ao Médico Veterinário e colega Danilo Otávio Laurenti Ferreira por todo auxílio e dedicação ao projeto. Obrigada!

Agradeço às docentes Eunice Oba, Fabiana Ferreira de Souza, Regina Kiomi Takahira e ao docente João Carlos Pinheiro Ferreira pela oportunidade de trabalharmos juntos, pelo consentimento dos trabalhos realizados nos respectivos laboratórios, pelo tempo dedicado às minhas análises e pelos conhecimentos proporcionados. Muito obrigada!

Agradeço aos pós-graduandos Viviane Maria Codognoto e Henry David Mogollón García por todo auxílio durante as análises laboratoriais realizadas. Muito obrigada!

Sei que foram muitos os envolvidos nessa trajetória e saibam que sou eternamente grata à todos, afinal esse sonho só foi possível porque fui

privilegiada por Deus com pessoas de bem, que se dedicaram, torceram e estiveram ao meu lado para que eu chegasse até aqui!

Agradeço ao meu gato Bóris pelo companheirismo de todas as horas, por estar ao meu lado incansavelmente, por tornar os meus dias mais leves e por transbordar essa energia positiva que me contagia e mobiliza para dar continuidade na caminhada da vida. Muito obrigada!

Finalmente, e gostaria de fazer um agradecimento especial à todos os animais que participaram do projeto. Houve perdas, algumas que me marcaram, porém hoje acredito que foi um aprendizado e superação pessoal. Agradeço também à todos os pacientes que passaram por mim na Clínica Médica de Pequenos Animais da FMVZ-UNESP, Botucatu, nesses anos, à todos os tutores que confiaram no meu trabalho. Espero poder exercer meu trabalho da melhor forma possível para que realmente eu consiga proporcionar aos meus pacientes o conforto e a leveza de viver com qualidade. É minha obrigação e vocês merecem. Agradeço e peço à São Francisco de Assis para que guie meus passos e me ilumine nas condutas para que eu sempre opte e faça o melhor por vocês. Muito obrigada e todo o meu respeito por vocês!

“Dos medos nascem as coragens. Os sonhos anunciam outra realidade possível, e os delírios, outra razão. Somos o que fazemos para transformar o que somos. A identidade não é uma peça de museu, quietinha na vitrine, mas sempre assombrosa síntese das contradições nossas de cada dia. Nessa fé, fugitiva, eu creio.”

Eduardo Galeano

LISTA DE FIGURAS

Seção 1

Figura 1. Método ultrassonográfico transabdominal em ovelhas da raça Dorper. Posição da mãe e do transdutor. 38

Figura 2. Posição do operador e demonstração da região inguinal para identificação fetal em ovelhas da raça Dorper. 39

Figura 3. Representação esquemática de um corte longitudinal das quatro câmaras cardíacas evidenciando as mensurações do comprimento e diâmetro do coração fetal. 39

Figura 4. Ecocardiograma fetal em ovino (4º mês). Corte longitudinal no eixo longo ilustrando as quatro câmaras cardíacas do feto. 40

Figura 5. Representação esquemática de uma seção longitudinal ilustrando as mensurações das câmaras atriais e ventriculares. 40

Figura 6. Ecocardiograma fetal em ovino (4º mês). Corte longitudinal no eixo longo ilustrando as câmaras ventriculares e atriais. 41

Seção 2

Figura 1. Posicionamento eletrodos (lado esquerdo tórax) para aquisição de dados de VFC em ovelhas da raça Dorper. 77

Figura 2. Posicionamento eletrodos (lado direito tórax) para aquisição de dados de VFC em ovelhas da raça Dorper. 77

Figura 3. Parâmetros ecocardiográficos maternos em ovelhas da raça Dorper que apresentaram diferença significativa nos períodos avaliados: A-SIV (d), B-DIVE (d), C-DIVE (s), D-PLVE (s), E-Fração de ejeção, F-Tamanho do átrio esquerdo 78

Seção 3

Figura 1. Posicionamento eletrodos (lado esquerdo) para registro de VFC fetal em ovelhas da raça Dorper.....85

Figura 2. Posicionamento eletrodos (lado direito) para registro de VFC fetal em ovelhas da raça Dorper.....86

Figura 3. Posicionamento eletrodos recomendado para registro convencional de VFC em cordeiros da raça Dorper 87

Figura 4. Traçado eletrocardiográfico fetal obtido pelo método Televet 100® no quinto mês de gestação 89

Figura 5. Traçado eletrocardiográfico neonatal obtido pelo método Televet 100® 24 horas após o parto em cordeiros da raça Dorper.....92

Figura 6. Traçado eletrocardiográfico neonatal obtido pelo método Televet 100® em cordeiros da raça Dorper com 21 dias de idade 92

Figura 7. Representação esquemática FC mínima no período fetal e neonatal em cordeiros da raça Dorper (-5: 5º mês de gestação; -4: 4º mês de gestação; 1: 24 horas de vida; 7,14, 21, 30, 60, 90 e 120 dias de idade) 96

Figura 8. Representação esquemática FC média no período fetal e neonatal em cordeiros da raça Dorper (-5: 5º mês de gestação; -4: 4º mês de

gestação; 1: 24 horas de vida; 7, 14, 21, 30, 60, 90 e 120 dias de idade)
96

Figura 9. Representação esquemática FC máxima no período fetal e neonatal em cordeiros da raça Dorper (-5: 5º mês de gestação; -4: 4º mês de gestação; 1: 24 horas de vida; 7, 14, 21, 30, 60, 90 e 120 dias de idade)
97

Figura 10. Representação esquemática índice de VFC no domínio da frequência LF (n.u.) no período fetal e neonatal em cordeiros da raça Dorper (-5: 5º mês gestação; -4: 4º mês gestação; 1: 24 horas de vida; 7, 14, 21, 30, 60, 90 e 120 dias de idade)
97

Figura 11. Representação esquemática índice de VFC no domínio da frequência HF (n.u.) no período fetal e neonatal em cordeiros da raça Dorper (-5: 5º mês gestação; -4: 4º mês gestação; 1: 24 horas de vida; 7, 14, 21, 30, 60, 90 e 120 dias de idade)
98

LISTA DE TABELAS

Seção 1

Tabela 1. Dados reprodutivos (prolificidade, distribuição sexual de cordeiros) e idade dos ovinos Dorper submetidos ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo 41

Tabela 2. Avaliação ecocardiográfica fetal (diástole) (média, desvio padrão, mínimo, máximo, intervalo interquartil) em ovinos Dorper.....42

Seção 2

Tabela 1. Parâmetros clínicos maternos (média, desvio-padrão, mínimo e máximo) obtidos no período gestacional e após o nascimento em ovelhas da raça Dorper. 74

Tabela 2. Parâmetros ecocardiográficos (média, desvio-padrão, mínimo e máximo) maternos obtidos durante o período gestacional e 24 horas após o parto em ovelhas da raça Dorper 75

Tabela 3. Índices de VFC maternos (média, desvio-padrão, mínimo e máximo) durante o período gestacional e 24 horas após o parto em ovelhas da raça Dorper 76

Seção 3

Tabela 1. Índices de VFC fetal (média, desvio-padrão, mínimo, máximo) no quarto e quinto mês de gestação em ovinos da raça Dorper 88

Tabela 2. VFC em cordeiros da raça Dorper (média, desvio-padrão, mínimo, máximo) a partir de 24 horas de nascimento até 120 dias de idade.

.....91

Tabela 3. Comparação dos índices de VFC no período fetal (4º mês) e no período neonatal em ovinos da raça Dorper.....94

Tabela 4. Comparação dos índices de VFC no período fetal (5º mês) e no período neonatal em ovinos da raça Dorper.....95

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Índices de VFC no domínio do tempo.
.....146

Quadro 2. Índices de VFC no domínio da frequência.
.....146

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE	Átrio esquerdo
Ao	Aorta
AV	Atrioventricular
bpm	Batimentos por minuto
d	Diástole
DC	Débito cardíaco
DEP	Densidade espectral de potência
DIVE	Diâmetro interno do ventrículo esquerdo
ECG	Eletrocardiograma
FC	Frequência cardíaca
FCF	Frequência cardíaca fetal
FE	Fração de ejeção
FEVE	Fração de encurtamento do ventrículo esquerdo
FFT	Transformação rápida de Fourier
FR	Frequência respiratória
HHA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
HHT	Eixo hipotálamo-hipófise-tireóide
HT	Hormônio tireoideano
Hz	Hertz
HF	<i>High Frequency</i>
LF	<i>Low frequency</i>
Max.	Máxima

Med.	Média
Min.	Mínima
mpm	Movimentos por minuto
ms	Milissegundos
NN	Intervalo RR médio de todo o registro
NO	Óxido nítrico
n.u.	Unidades normalizadas
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PLVE	Parede livre do ventrículo esquerdo
PNN50	Porcentagem de intervalos RR adjacentes com diferença de duração superior a 50 milissegundos
RMSSD	Raiz quadrada da média do somatório dos quadrados das diferenças entre intervalos RR adjacentes
RP	Restrição proteica
RVP	Resistência vascular periférica
Sist.	Sístole
SA	Sinoatrial
SDANN	Desvio-padrão da média dos intervalos RR normais a cada 5 minutos
SDNN	Desvio-padrão da média de todos os intervalos RR normais
SIV	Septo interventricular

SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Parassimpático
SNS	Sistema Nervoso Simpático
TGI	Trato Gastrointestinal
TRH	Hormônio de liberação da tireotropina - tireotrófico
TSH	Hormônio estimulante da tireóide - tireoestimulante
TPC	Tempo de preenchimento capilar
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca
VLF	<i>Very low frequency</i>

SUMÁRIO

RESUMO.....	01
ABSTRACT	02
CAPÍTULO I	03
1 INTRODUÇÃO	04
2 REVISÃO DE LITERATURA	06
2.1 Adaptações cardiovasculares fisiológicas na gestação	06
2.2 Variabilidade da Frequência Cardíaca	08
2.2.1 Análise da VFC	09
2.2.2 VFC e gestação	11
2.2.3 Emoções e VFC	15
3 HIPÓTESES	19
4 OBJETIVOS	20
CAPÍTULO II	21
Seção 1	22
Seção 2	43
Seção 3	79
CAPÍTULO III	115
Discussão Geral	115
5 CONCLUSÕES	133
6 REFERÊNCIAS	135
Normas das revistas	145
Apêndice	146
Valores de referência para ovinos	156

CRUZ-ALEIXO, A.S. **Parâmetros ecocardiográficos e variabilidade da frequência cardíaca em ovinos da raça Dorper no período perinatal.** Botucatu, 2019, 156p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Os objetivos do presente estudo foram descrever a avaliação cardíaca pré-natal em ovinos, uma vez que durante a gestação e no período neonatal ocorre uma série de modificações fisiológicas. O diagnóstico de gestação em ovelhas incorpora valor econômico sendo que, quando realizado precocemente, é útil para adequação do manejo nutricional, além disso, os dados obtidos podem servir de base em pesquisas translacionais, já que os parâmetros cardíacos na espécie ovina assemelham-se aos do neonato humano. Foram avaliados os aspectos clínicos, ecocardiográficos e eletrocardiográficos (VFC) de 10 ovelhas da raça Dorper, durante cinco meses de gestação e 24 horas após o parto, sendo os cordeiros também avaliados no mesmo período referido, sete, 14, 21, 30 dias, dois, três e quatro meses após o nascimento. Os parâmetros ecocardiográficos maternos modificaram-se durante a gestação havendo aumento da espessura do SIVd a partir do 3º mês, aumento do DIVEs e DIVEd no 2º e 3º mês. A FE elevou-se com o avançar da gestação e o tamanho do AE a partir do 2º mês. Não houve diferença para os parâmetros ecocardiográficos fetais, exceto para o diâmetro do VE que apresentou maior dimensão no quinto mês gestacional. No período neonatal o intervalo RR elevou-se a partir de 21 dias. Houve diferença nos períodos etários quanto aos índices LF (n.u.), que reduziu a partir de 21 dias de idade e para o índice HF (n.u.) o inverso ocorreu. Os parâmetros ecocardiográficos modificam-se conforme a gestação progride em ovelhas. A avaliação ecocardiográfica fetal permite identificar a viabilidade fetal bem como o tamanho das câmaras cardíacas, porém há limitações a campo. Em cordeiros a atividade parassimpática parece predominar a partir de 21 dias de idade, sendo a VFC um método útil para avaliação do desenvolvimento em cordeiros.

Palavras-chave: gestação, ovelhas, cordeiros, variabilidade da frequência cardíaca, ecocardiograma, neonatal.

CRUZ-ALEIXO, A.S. **Echocardiographic parameters and heart rate variability in Dorper sheep in the perinatal period.** Botucatu, 2019, 156p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The objectives of the present study were to describe prenatal cardiac evaluation in sheep, since during pregnancy and the neonatal period a series of physiological changes occurs. The diagnosis of pregnancy in sheep incorporates economic value and, when performed early, is useful for the adequacy of nutritional management. In addition, the data obtained may serve as a basis for translational research, since the cardiac parameters in sheep are similar to of the human neonate. The clinical, echocardiographic and electrocardiographic (HRV) aspects of 10 Dorper ewes were evaluated during five months of gestation and 24 hours after calving. The lambs were also evaluated during the same period, seven, 14, 21, 30 days, two, three and four months after birth. Maternal echocardiographic parameters changed during pregnancy, with increased thickness of the SIVd from the third month, the DIVEs and DIVEd at the second and third month. The EF increased with advancing pregnancy and the size of the AE from the second month. There was no difference for fetal echocardiographic parameters, except for the LV diameter that was larger in the fifth gestational month. In the neonatal period, the RR interval increased from 21 days. There was a difference in age for LF (n.u.), which decreased from 21 days of age, and for HF (n.u.), the opposite occurred. Echocardiographic parameters change as gestation progresses in sheep. Fetal echocardiographic evaluation allows the identification of fetal viability as well as the size of the cardiac chambers, but there are limitations to the field. In lambs, parasympathetic activity seems to predominate from 21 days of age, and HRV is a useful method for evaluation and development in lambs.

Keywords: gestation, sheep, lambs, heart rate variability, echocardiogram, neonatal.

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO

A espécie ovina tem sido amplamente empregada em diversos protocolos experimentais em Medicina Veterinária e estudos em Medicina (HUANG et al., 2004; BORENSTEIN et al., 2006; JOUSSET et al., 2012). Modelos de cardiopatias isquêmicas e insuficiência cardíaca são elaborados em ovinos e vem sendo cada vez mais explorados nas pesquisas, entretanto, a extrapolação dos resultados para o cenário clínico exige o conhecimento da função cardíaca fisiológica em neonatos nesta espécie (POWER, TONKIN, 1999; RABBANI et al., 2008; LOCATELLI et al., 2011).

O diagnóstico gestacional bem como a identificação ultrassonográfica de estruturas embrionárias e fetais podem ser empregados para determinar a viabilidade fetal e a estimativa do período de gestação, sendo importantes na produção e pesquisa em ovinos, pois permitem o planejamento e gerenciamento do desenvolvimento fetal e neonatal. A ultrassonografia é considerada uma ferramenta diagnóstica relevante para o exame gestacional onde múltiplas avaliações podem ser realizadas ao longo do período gestacional. Assim, as práticas de gestão podem ser ajustadas a qualquer momento durante a prenhez (SANTOS et al., 2018).

Estudos do coração de fetos em ovelhas identificaram alterações no miocárdio durante o último terço da gestação. Além de mudanças no desenvolvimento da vascularização, cardiomiócitos, miofibrilas e conteúdo mitocondrial, há um aumento acentuado do número de cardiomiócitos no coração bem como uma transição de células mononucleadas dos miócitos para binucleadas. No coração de ovelhas, a transição de células mononucleadas para binucleadas se inicia por volta dos 100 dias de gestação, de tal modo que, 70% dos cardiomiócitos são binucleados ou terminalmente diferenciados (SANDGREN et al., 2015).

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) designa as oscilações contínuas de intervalos RR sucessivos. A avaliação da VFC permite a extração das modulações simpática e parassimpática da frequência cardíaca (FC). De fato, a VFC resulta do equilíbrio dinâmico gerado pela co-ativação, co-inibição ou ativação/inibição recíproca dos sistemas nervoso simpático e parassimpático. A VFC é, portanto, um indicador de regulação do Sistema Nervoso Autônomo (SNA). Esse fato é particularmente relevante na medicina, uma vez que o

desequilíbrio autonômico prolongado tem sido associado à uma variedade de distúrbios somáticos e mentais (LÉONARD et al., 2019).

Os organismos biológicos são sistemas complexos e que, em regra geral, têm comportamento não linear. Os sistemas não lineares são enquadrados em uma linha de pensamento à qual se convencionou chamar Teoria do Caos. O comportamento caótico é característico de sistemas nos quais, apesar da aparente aleatoriedade, existe uma ordem oculta, sendo dinâmicos, deterministas, regidos por equações não lineares e altamente sensíveis às condições iniciais. Essa não linearidade é essencial para a vida pois é ela que mantém a homeostasia do organismo (SELIG et al., 2011).

O conceito atual de homeostase, portanto, se refere à uma tendência do organismo de manter uma relativa regularidade nas funções orgânicas regulada pelo SNA via componentes simpático e parassimpático e sob influência dos diferentes sistemas e do meio externo. Partindo dessa premissa, qualquer parâmetro fisiológico que possa ser mapeado ou registrado, como temperatura, pressão arterial (PA), padrão respiratório, pode refletir em maior ou menor grau o comportamento caótico do organismo. Um dos parâmetros mais utilizados na literatura para análise do padrão caótico são as flutuações espontâneas que podem ser observadas na FC, denominadas em conjunto de VFC (SELIG et al., 2011).

Os objetivos do presente estudo foram avaliar o desenvolvimento cardíaco fetal em ovinos durante os meses gestacionais, uma vez que, sendo a espécie ovina empregada em estudos experimentais em neonatologia em humanos devido às semelhanças do coração nas duas espécies, a identificação do tamanho cardíaco e cardiopatias congênitas pode contribuir e otimizar pesquisas que visam a aplicação de técnicas cirúrgicas ainda na vida fetal. Objetivou-se discorrer sobre as limitações da técnica de ultrassonografia fetal a campo; avaliar o comportamento da VFC fetal, da frequência cardíaca fetal (FCF) em fetos ovinos da raça Dorper, a atividade do SNA na vida fetal, bem como em cordeiros após o nascimento, uma vez que a atividade do SNA representa um índice prognóstico. Pretendeu-se avaliar as alterações nos parâmetros ecocardiográficos durante o período gestacional em ovelhas, bem como os índices de VFC e parâmetros clínicos maternos no mesmo período referido, já que nessa fase ocorre uma série de modificações fisiológicas o que também

permite empregar a espécie em pesquisas translacionais. O conhecimento de parâmetros maternos gestacionais, fetais e neonatais proporciona benefícios à saúde dos animais de produção, bem como pode beneficiar escolhas dentro do próprio sistema otimizando os custos de produção e contribuir para geração de descendentes de alto valor zootécnico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Adaptações cardiovasculares fisiológicas na gestação

A gestação é um período onde ocorrem adaptações no organismo materno necessárias para o crescimento e desenvolvimento embrionário e fetal. As alterações circulatórias durante o período gestacional concentram-se principalmente na elevação do volume sanguíneo, do débito cardíaco (DC) e FC e redução da PA. Também ocorrem alterações do endotélio vascular, do fluxo sanguíneo e fatores de coagulação (HALL et al., 2011; ALMEIDA et al., 2017).

As modificações no período gestacional também ocorrem em decorrência da influência hormonal onde progesterona e estrogênio contribuem significativamente para essas modificações. Os efeitos da progesterona acarretam em redução da tonicidade da musculatura lisa em órgãos maternos, incluindo os vasos sanguíneos, aumento de temperatura e de gordura corporal, auxílio na lactação e estimulação do centro respiratório, elevando assim a frequência respiratória e a amplitude respiratória. Por outro lado, os efeitos do estrogênio incluem: retenção de líquido como ação compensatória da retenção de sódio, flexibilidade das articulações, homeostase do cálcio e conjuntamente com a prolactina auxilia na lactação (WALTERS, 1998; SOMA-PILLAY et al., 2016).

O volume sanguíneo eleva-se durante a gestação em mulheres em torno de 45-50% acima de valores não gravídicos, sendo estimulado pelo estrogênio e mediado pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), o que resulta em retenção de sódio e água. Existe um consenso de que o DC aumenta cerca de 40% durante a gestação em mulheres, porém o tempo decorrido desse aumento e a contribuição relativa da FC e do volume sistólico permanecem controversos, sendo possíveis causas para essa modificação as variações no DC entre os indivíduos e os métodos distintos empregados para as avaliações (HUNTER, ROBSON, 1992).

A atividade elevada do SRAA ocorre no início da gestação com aumento progressivo do volume plasmático até 28 à 30 semanas. À medida que a produção de estrogênio aumenta também aumenta a produção de angiotensinogênio. Essa ativação mantém a PA e auxilia na retenção de sódio e água, uma vez que a dilatação arterial sistêmica e renal materna (resultando em perda de sódio e água) poderia promover impactos negativos no sistema cardiovascular (LUMBERS, PRINGLES, 2014).

O DC eleva-se em cerca de 50% predominantemente devido ao aumento do volume sistólico numa fase inicial e ao aumento da FC no 3º trimestre em mulheres. Há redução da resistência vascular periférica (RVP) com consequente redução da PA sistólica e diastólica. O valor mínimo de PA é alcançado durante o segundo trimestre (redução de 5-10 mmHg do valor inicial), contudo a redução acentuada da PA acontece entre as seis e oito semanas de gestação (GUIMARÃES et al., 2019). O decréscimo da PA ocorre devido à redução da RVP, que contrabalança o DC, sendo que o declínio da resistência vascular está relacionado com o tônus vascular reduzido pela atividade da progesterona (FUJITANI, BALDISSERI, 2005). O aumento da PA ocorre durante o terceiro trimestre atingindo novamente os valores pré-concepção. No trabalho de parto e no pós-parto imediato atinge-se o pico máximo do DC com aumento de 60-80%. Tal fato deve-se à fatores como: aumento da FC, aumento da pré-carga associada às contrações uterinas, à elevação das catecolaminas circulantes e à descompressão de órgãos abdominais (GUIMARÃES et al., 2019).

De acordo com Oppen et al. (1996) na ecocardiografia em modo M pode haver influência na avaliação do DC devido ao aumento progressivo do volume cardíaco e da dimensão diastólica final ao longo da gestação, o que poderia acarretar em superestimação do volume de ejeção. Na ecocardiografia com Doppler a mensuração da área transversa da aorta pode ser uma fonte de erro. Com base na suposição de que o anel aórtico é circular a área valvar é estimada principalmente pela equação $\pi \times (\text{diâmetro}/2)^2$. Portanto, pequenas diferenças no diâmetro da aorta têm um grande efeito na área transversal da aorta.

A espessura da parede ventricular e a massa da parede ventricular esquerda aumentam 28% à 52% acima dos valores pré-gestacionais, respectivamente, durante toda a gestação. Estudos de ressonância magnética cardíaca quantificaram um aumento de 40% na massa ventricular direita e estudos em

camundongos prenhes sugeriram que o remodelamento cardíaco temporário associado à sobrecarga de volume e à hipertrofia ventricular, é acompanhado por aumento da expressão do fator de crescimento endotelial vascular e aumento da angiogênese miocárdica, porém não havendo fibrose miocárdica (SANGHAVI, RUTHERFORD, 2014).

Mabie et al. (1992) referiram que o DC aumentou significativamente em relação aos valores não-gestantes em mulheres no primeiro trimestre da gestação e esse aumento manteve-se durante todo o período. O DC elevado foi devido à um aumento na FC e no volume sistólico. Houve aumento da espessura da parede ventricular embora o tamanho da cavidade permanecesse inalterado. Segundo os autores, essas alterações funcionais e morfológicas regrediram marcadamente 12 semanas após o parto.

A produção de óxido nítrico (NO) encontra-se elevada na gestação normal sendo que esse aumento desempenha um papel importante na vasodilatação. A síntese de NO atenua a resistência periférica total e aumenta o DC associado à gestação. A maior produção de eritropoietina leva à estímulo da eritropoiese. Contudo, uma vez que o aumento do volume plasmático é superior ao da massa eritrocitária, ocorre hemodiluição, com consequente anemia fisiológica da gestação (HALL et al., 2011). Também, a relaxina, um hormônio peptídico produzido pelo corpo lúteo e pela placenta, desempenha um papel importante na regulação do metabolismo hemodinâmico durante a gestação. As concentrações séricas de relaxina aumentam após a concepção até um pico no final do primeiro trimestre e reduzem para um valor intermédio ao longo do segundo e terceiro trimestres. A relaxina estimula a formação de endotelina que por sua vez medeia a vasodilatação das artérias renais através da síntese de ON, considerado o mais importante dos fatores de relaxamento derivados do endotélio (HAAS et al., 2017).

2.2 Variabilidade da Frequência Cardíaca

A VFC refere-se à flutuações batimento à batimento na FC ou na duração dos intervalos RR. Uma vez que a FC é modulada pelo nó sinoatrial (SA) e o mesmo recebe impulsos nervosos do SNA, incluindo os ramos simpático e parassimpático, a VFC é amplamente utilizada para monitorar eficientemente a

atividade do SNA e seus componentes (CARDOSO, GUIMARÃES, SILVA, 2017).

A função cardíaca saudável é caracterizada por intervalos de tempo irregulares entre batimentos cardíacos consecutivos. Essa variabilidade é resultado da oscilação rítmica dos componentes que regulam a atividade cardíaca, os quais funcionam para manter a homeostase cardiovascular dentro de um intervalo definido e para orquestrar as respostas aos desafios (LEVY, 1990). A VFC primariamente emerge da atividade originada dos ramos individuais do SNA, que por sua vez é influenciada por mecanismos neuronais, hormonais e outros mecanismos fisiológicos de controle e feedback (SAUL, 1990). O sistema nervoso central (SNC), em particular a formação reticular da medula oblonga (centro de circulação medular), o hipotálamo e as áreas neocorticais e paleocorticais também participam em todos os níveis de regulação cardiovascular (BORREL et al., 2007).

Embora uma ampla gama de fatores fisiológicos determinem as funções cardíacas, o SNA é o mais proeminente. É importante ressaltar que quando ambos os estímulos cardíacos, vagais e simpático, são bloqueados farmacologicamente (por exemplo, com atropina e propranolol, o chamado bloqueio duplo) a FC intrínseca é maior que a FC normal em repouso (FRASCH et al., 2009). Esse fato sustenta a ideia de que o coração está sob controle inibitório por influências parassimpáticas. Assim, o equilíbrio autonômico cardíaco em repouso favorece a conservação de energia por meio da dominância parassimpática sobre as influências simpáticas. Além disso, a série temporal de FC é caracterizada pela variabilidade de batimento à batimento em uma ampla faixa, o que também implica em dominância vagal, já que a influência simpática no coração é muito lenta para produzir mudanças batimento à batimento. Há um interesse crescente no estudo da VFC entre pesquisadores de diversas áreas. A baixa VFC está associada ao aumento do risco de mortalidade por todas as causas e tem sido proposta como um marcador para afecções (THAYER, YAMAMOTO, BROSSCHOT, 2010).

2.2.1 Análise da VFC

Os dados básicos para o cálculo de todas as mensurações da VFC são a sequência de intervalos de tempo entre os batimentos cardíacos. Essa série

temporal de intervalos entre batimentos é utilizada para calcular a variabilidade no tempo do batimento cardíaco (THAYER et al., 2012).

- Método no domínio do tempo

A análise da VFC no domínio do tempo expressa os resultados em unidade de tempo (milissegundos), sendo os índices obtidos a partir dos intervalos RR normais ou das diferenças entre os mesmos. Cada batimento sinusal é registrado em um intervalo de tempo e a partir de mensurações matemáticas e estatísticas desses batimentos calcula-se os índices de VFC no domínio do tempo (BUTLER, WILHELM, GROSS, 2006).

- Método no domínio da frequência

A VFC também pode ser estimada por métodos no domínio da frequência que calculam os diferentes componentes de frequência de um sinal de frequência cardíaca através de uma transformação rápida de Fourier (FFT) de uma série temporal RR. O método exhibe em um gráfico a contribuição relativa de cada frequência, enquanto a área sob uma determinada faixa é uma medida de sua variabilidade (potência) (PAPAIOANNOU, PNEVMATIKOS, 2019).

Segundo Stucke et al. (2015), na análise espectral as características do sinal oscilante como frequência e potência são estimadas. Neste contexto a densidade espectral de potência (DEP) indica em quais frequências o sinal mostra fortes variações, sendo mensurado em potência por unidade de largura de banda. Assim, pode-se calcular a potência do sinal espectral dentro de uma determinada banda de frequência computando a área sob a curva de densidade espectral nessa banda de frequência. Uma forma de estimar a DEP é transformar os dados no domínio da frequência. A transferência do domínio do tempo (dados em função do tempo) para o domínio da frequência é realizada pela aplicação da transformada de Fourier. Na análise da VFC, interessa-se especialmente a potência do sinal dentro de determinadas bandas de frequência pré-definidas (isto é, a área sob a curva de DEP em determinados intervalos).

Periodicidades rápidas na faixa de 0,15 a 0,4 hertz (Hz) (alta frequência [HF]) são em grande parte devido à influência do tônus vagal, enquanto que periodicidades de baixa frequência (LF), na região de 0,04 a 0,15 Hz, são produzidas por feedback do barorreflexo, influenciadas pela modulação simpática e parassimpática do coração e periodicidades de frequência muito baixa (VLF, menor que 0,04 Hz) tem sido atribuídas à modulação pela influência

da atividade vasomotora. A razão LF/HF foi sugerida para refletir o equilíbrio simpato-vagal (THAYER, YAMAMOTO, BROSSCHOT, 2010). A explicação fisiológica do componente VLF é pouco definida e a existência de um processo fisiológico específico é atribuível à essas mudanças no ciclo cardíaco, fato ainda questionado por pesquisadores (TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AND THE NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING AND ELECTROPHYSIOLOGY, 1996).

Outros métodos empregados para avaliar a VFC são os denominados métodos não-lineares como o plot de Poincaré, a análise de flutuação destendenciada, análise de tónus/entropia e a análise de complexidade da FC (ROY, GHATAK, 2013). Considerando a natureza não linear dos sistemas orgânicos, a análise não linear é necessária, pois algumas informações podem ser perdidas se apenas métodos lineares forem aplicados. Essas técnicas têm se mostrado importantes para caracterização de sistemas complexos como complexidade e propriedade de escala fractal da série de batimentos cardíacos. A análise do plot de Poincaré consiste em uma representação visual dos valores de cada par de elementos sucessivos em uma série temporal (tacograma) em um espaço simplificado ou plano cartesiano, caracterizando-se como uma análise geométrica que ajusta uma elipse à forma do plot de Poincaré para calcular índices de VFC (HOSHI et al., 2013).

A VFC tem sido empregada como índice prognóstico para as diversas afecções. Nas últimas décadas, pesquisadores visam identificar uma ampla gama de marcadores para detectar o risco de morte súbita cardíaca. Para pacientes com isquemia miocárdica, indicadores como estimulação ventricular programada, potencial tardio, VFC, sensibilidade barorreflexa, dispersão do intervalo QT, alternância da onda T microvoltada e turbulência da FC tem sido propostos, sendo que, entre esses, a VFC mostrou-se ser o marcador mais interessante (SESSA et al., 2018). Também, a VFC em pacientes sépticos demonstrou-se um importante índice prognóstico onde o índice SDNN ≤ 17 ms foi associado à um maior risco de morte (CASTILHO et al., 2017).

2.2.2 VFC e gestação

No final da gestação as crescentes demandas do feto em desenvolvimento representam uma demanda adicional para o metabolismo materno. Quando

ovelhas imaturas estão no período gestacional as mesmas direcionam preferencialmente os nutrientes ao seu próprio metabolismo em detrimento do desenvolvimento placentário e fetal. A restrição nutricional em ovelhas promove hipertrofia biventricular e aumento no tamanho hepático nesses fetos, onde o aumento do tamanho hepático ocorre devido à elevação da atividade metabólica do fígado imperativo para o desenvolvimento, uma vez que, as necessidades de glicose do feto ovino em crescimento são atendidas em grande parte através da captação placentária de glicose materna e as concentrações de glicose no sangue materno e fetal são altamente correlacionadas (SANSOM et al., 2000).

A hipertrofia biventricular é sugestiva de pós-carga ventricular elevada em fetos com restrição nutricional, o que também ocorre em fetos humanos. Os componentes que contribuem para o aumento da pós-carga ventricular são a impedância aórtica ou da artéria pulmonar, resistência vascular periférica e viscosidade sanguínea. Modelos anteriores utilizando fetos ovinos resultaram em hipertrofia ventricular esquerda sem aumento do coração direito. Assim, esse modelo de privação precoce de nutrientes fetais nas ovelhas também pode servir como um modelo relevante para estudar a etiologia e as consequências da hipertrofia ventricular fetal humana. Adicionalmente, as exigências metabólicas elevadas na mãe podem afetar o bem-estar fetal e o resultado da gestação (VONNAHME et al., 2003).

Em humanos a relação SNA e VFC é descrita como resultado de alterações inflamatórias, imunológicas, hormonais bem como hemodinâmicas. Além das modificações metabólicas intrínsecas, a variabilidade interna pode aumentar devido à outras variáveis, como peso materno e dieta. A frequência respiratória (FR) tem grande influência sobre a VFC. Durante a gestação a FR eleva-se na fase inicial. No entanto, alguns autores referem redução da VFC durante a gestação, porém esse fato não pode ser explicado apenas por alterações respiratórias (STEIN et al., 1998).

No início da gestação em mulheres (< 7 semanas) as diferenças nos índices espectrais de VFC tendem a ser inferiores em relação ao final da gestação. Alguns autores referem não existirem diferenças significativas no início da gestação quando comparadas com mulheres não-gestantes, exceto para a banda de baixa frequência (LF) e para o índice SDNN, enquanto outros referem que apenas em mulheres obesas as diferenças entre o início e final da gestação

são significativos com um aumento da relação de baixa e alta frequência (LF/HF) e uma redução do índice SDNN que, neste caso, não está associada à alterações nos níveis de insulina e glicose no sangue, mas possivelmente relacionada com o aumento de leptina (TEJERA et al., 2007).

Farche et al. (2017) realizaram um estudo visando comparar a resposta da modulação autonômica da FC de gestantes e mulheres não gestantes antes e após a manobra de acentuação da arritmia sinusal respiratória. As gestantes incluídas no estudo foram posicionadas em decúbito lateral esquerdo, onde segundo os autores, devido às circunstâncias anatômicas uterinas e cardíacas, essa caracteriza-se como melhor posicionamento para evitar a compressão de grandes vasos, além de minimizar os aspectos gravitacionais que atuam sobre o abdome materno. A FC foi compilada por um cardiofrequencímetro (Polar®). De acordo com os resultados do estudo as pacientes gestantes apresentaram maior modulação simpática quando comparadas às mulheres não gestantes (gestantes: $LF = 68,9 \pm 28,1$; controles: $LF = 49,3 \pm 11,7$). Após a manobra respiratória, o índice RMSSD aumentou no grupo gestantes (pré-manobra: $34,5 \pm 5,7$; pós-manobra: $38,9 \pm 5,8$), indicando aumento da atuação parassimpática após a aplicação da manobra. Os autores concluíram que o padrão de respiração lenta e profunda aumenta a modulação vagal.

Carpenter et al. (2015) referem que mudanças ocorrem na VFC durante a gestação e parecem refletir uma redução substancial no tônus parassimpático e um aumento na atividade simpática até o final do primeiro trimestre em mulheres. Outrora, segundo os autores, Kuo et al. (1997), encontraram maior tônus parassimpático e redução do tônus simpático em três posições maternas diferentes (em particular a posição supina). Um aumento na atividade simpática durante os estágios iniciais da gestação pode ter efeitos positivos, uma vez que aumenta a capacidade das mulheres grávidas para se adaptarem às alterações hemodinâmicas e, assim, reduzir o risco de hipotensão ortostática.

Contrastando com os achados de Carpenter et al. (2015), Alam et al. (2018), em seu estudo visando avaliar o comportamento da VFC em mulheres no período gestacional, encontraram maior dominância parassimpática no primeiro trimestre e redução gradativa da atividade vagal tanto no segundo trimestre quanto no terceiro trimestre, e menor atividade simpática no primeiro trimestre, a qual, inversamente à atividade parassimpática, aumentou gradativamente no

segundo e terceiro trimestre da gestação, sendo que esses resultados foram ilustrados pelos índices de VFC tanto no domínio do tempo quanto da frequência (HF e LF em unidades normalizadas).

Stone et al. (2017) encontraram uma associação significativa da posição materna com a frequência cardíaca fetal (FCF) onde os índices de VFC SDNN e RMSSD foram reduzidos nas posições semi-inclinada e supina, concluindo que no final da gestação saudável a posição materna afeta a FCF e a VFC. Os autores acreditam que esses efeitos são devido à adaptações fetais às posições que podem produzir um leve estresse hipóxico. Stacey et al. (2011) referem que a posição de sono materna supina é associada à maior risco de morte fetal.

A hipóxia é um risco para a viabilidade fetal sendo um fator comum nos distúrbios da gestação. A oxigenação fetal depende do suprimento de oxigênio placentário e uma redução na atividade cardíaca fetal é uma possibilidade de reduzir o consumo de oxigênio. A resposta primária à hipóxia fetal é, portanto, uma redução na FC. Os movimentos fetais estão associados à um aumento transitório na FC e os aumentos da FC episódica são indicativos de bem-estar fetal. A ausência de acelerações episódicas na FC sugere redução da atividade em fetos comprometidos, sendo que a VFC nesses casos pode ilustrar comprometimento da viabilidade fetal (JONCKHEERE et al., 2017).

Trenk et al. (2015) em seu estudo visando avaliar o comportamento da VFC em bovinos no período gestacional e a VFC fetal observaram que a FC em vacas pluríparas reduziu nove semanas antes do parto enquanto a FC não se alterou durante esse período em novilhas primíparas. Em contraste com a FC, os índices SDNN e RMSSD não apresentaram alterações significativas nas últimas 14 semanas de gestação, porém o SDNN foi superior nas vacas em relação as novilhas, sugerindo maior tônus simpático e/ou tônus vagal inferior nas vacas. Os autores ainda referiram que os resultados em bovinos estão de acordo com estudos em equinos, que mostraram um aumento contínuo da FC materna, mas nenhuma alteração na VFC entre o dia 270 da gestação e o parto.

Na análise da FCF, em seus estudos, a FC reduziu a partir da 14ª semana antes do parto até a semana do nascimento. A idade gestacional é, portanto, um importante fator determinante da FC no feto bovino, e, segundo os autores, o aumento da VFC fetal com a gestação contínua pode ser interpretado como um sinal de regulação cada vez mais complexa da atividade cardíaca. Assim como

em equinos e em humanos, as mudanças na VFC fetal observadas no final da gestação em vacas indicaram maturação da ação reguladora do SNA. O comportamento da VFC nos fetos bovinos no estudo em comparação com fetos equinos (NAGEL et al., 2016b), provavelmente, reflete o início precoce da maturação do SNA do feto em bovinos em comparação com os equinos.

A VFC não reflete apenas a maturação do SNA mas também é o resultado de uma resposta simpato-adrenal ao estresse. Em humanos, a redução da VFC é considerada um sinal de comprometimento fetal. O sinal que inicia o processo que leva ao nascimento é um aumento na liberação de cortisol do córtex adrenal fetal. Isso se assemelha ao estresse fetal e pode ser causado por um menor suprimento de nutrientes e oxigênio para o feto. Em equinos, a função placentária é subdesenvolvida em éguas primíparas quando comparadas à pluríparas, e diferenças compatíveis são prováveis em bovinos (NAGEL et al., 2011). Embora a maturação do SNA fetal seja semelhante em novilhas e vacas, a ativação simpato-adrenal concomitante pode resultar em uma redução ou nenhuma alteração na VFC (TRENK et al., 2015).

2.2.3 Emoções e VFC

Um conjunto central de estruturas neurais fornece à um organismo a capacidade de integrar sinais internos e externos regulando de forma adaptativa a cognição, percepção, ação e fisiologia. Esse sistema funciona tanto para avaliar continuamente o ambiente quanto para avaliar sinais de ameaça e segurança, como preparar o organismo para uma ação apropriada. Além disso, monitora a correspondência entre o ambiente externo e os processos homeostáticos internos do organismo, a fim de gerar estados de impulso motivacionais e ajustes fisiológicos adaptativos (BERNTSON et al., 2008). Neste âmbito há integração das atividades nos sistemas perceptivo, motor e de memória sendo um sistema extremamente complexo. No entanto, ainda é possível avaliar medidas fisiológicas que possam servir como índices do grau em que esse sistema fornece uma regulação flexível e adaptativa de seus sistemas componentes, sendo a VFC considerada uma medida para fornecer exatamente tais índices (MULKEY et al., 2018).

A motivação vem de estudos de sistemas dinâmicos complexos - sistemas nos quais múltiplos processos influenciam os demais. Quando os processos se

restringem mutuamente, o sistema como um todo tende a oscilar espontaneamente dentro de uma faixa de estados. Os vários processos são equilibrados em seu controle de todo o sistema e, assim, o sistema pode responder de maneira flexível à uma variedade de informações. No entanto, esses sistemas também podem se tornar desequilibrados e um processo particular pode vir a dominar o comportamento do sistema como um todo, tornando-o insensível ao intervalo normal de respostas. No contexto da regulação fisiológica e regulação do coração especificamente, um sistema equilibrado é saudável porque o sistema pode responder às demandas físicas e ambientais (THAYER, YAMAMOTO, BROSSCHOT, 2010).

Uma função primária do sistema cardiovascular é manter a PA e fornecer fluxo sanguíneo adequado para cérebro e outros órgãos vitais. Em resposta às demandas ambientais, a PA e a distribuição do fluxo sanguíneo são sincronizadas por um sistema que inclui o barorreflexo arterial. Os barorreceptores localizam-se principalmente no arco aórtico e seio carotídeo e o coração responde às mudanças na pressão sanguínea via receptores de estiramento (GRASSI, 1998). Esses barorreceptores enviam sinais aferentes para o cérebro que ajustam reflexivamente os estímulos eferentes para regular as mudanças na pressão sanguínea. Quando a pressão sanguínea eleva-se há aumento do estiramento e consequentemente redução reflexa na FC, na contratilidade cardíaca e na resistência vascular via ativação parassimpática e inibição simpática. Da mesma forma, redução na pressão sanguínea promove redução do estiramento de barorreceptores, aumento do reflexo na FC, na contratilidade cardíaca e na resistência vascular via inibição parassimpática e ativação simpática (CRUZ-ALEIXO et al., 2016).

Os efeitos distintos do SNA sobre o nó SA devem-se aos efeitos diferenciais dos neurotransmissores para os sistemas nervosos simpático (norepinefrina) e parassimpático (acetilcolina). Os efeitos simpáticos são lentos, na escala de tempo de segundos, enquanto os efeitos parassimpáticos são rápidos, na escala de tempo de milissegundos. Portanto, as influências parassimpáticas são as únicas capazes de produzir mudanças rápidas na FC (BUTLER, WILHELM, GROSS, 2006). Foi demonstrado que a redução da VFC está associada à uma série de fatores de risco para mortalidade e morbidade cardiovascular incluindo

estresse psicossocial. Indivíduos com maior capacidade de regulação da emoção apresentaram altos níveis de VFC em repouso (EIPPERT et al., 2007).

A capacidade de regular a emoção está intimamente relacionada à capacidade de moldar de forma flexível os processos cerebrais perceptuais e afetivos em resposta à contextos variáveis. As emoções representam a percepção individual de interações ambientais relevantes incluindo não apenas desafios e ameaças, mas também a capacidade de resposta aos mesmos. Uma resposta emocional adequada representa uma seleção de uma resposta integrada ótima a partir de um amplo repertório comportamental, de tal forma que o comportamento e o uso de energia sejam compatíveis com os requisitos situacionais (ÅHS et al., 2009).

Indivíduos com alta VFC em repouso comparados àqueles com baixa VFC produzem respostas emocionais apropriadas ao contexto. Além disso, indivíduos com baixa VFC em repouso apresentam recuperação tardia de fatores estressores psicológicos, bem como respostas cardiovasculares, endócrinas e imunológicas inferiores, quando comparados àqueles com níveis mais elevados de VFC em repouso. Assim, indivíduos com níveis altos de VFC no repouso parecem produzir respostas mais eficazes e apropriadas ao contexto estressor incluindo recuperação apropriada após o término do período de estresse (WEBER et al., 2010).

A VFC tem sido determinada como parâmetro de estresse fisiológico em equinos. Cavalos respondem ao estresse com redução da VFC, mas também com aumento da liberação de cortisol. Embora os mecanismos que conduzam ao desencadeamento do parto não sejam totalmente conhecidos, uma mudança na biossíntese dos esteróides supra-renais fetais e de progestágenos para cortisol ocorre antes do parto e o cortisol passa para a circulação materna. Em outras espécies, como bovinos e ovinos, um aumento nas concentrações de cortisol é o sinal pelo qual o feto inicia o parto e o cortisol exógeno induz o parto de maneira confiável. Portanto, também em cavalos, o estresse, independentemente da causa subjacente, pode colocar em risco a prenhez, aumentando a liberação de cortisol. A FC e a VFC podem ser determinadas de forma contínua e, portanto, é um bom parâmetro para detectar situações de estresse em éguas gestantes (NAGEL et al., 2010).

Janczarek et al. (2018) realizaram um estudo visando examinar a excitabilidade emocional e o comportamento de equinos em resposta à diferentes movimentos aplicados à regiões corporais empregando-se a VFC. Segundo os autores, é intuitivo que acariciar a pele de um cavalo em repouso, adaptado à manipulação, não aumenta sua excitabilidade emocional ou altera seu comportamento. Entretanto, de acordo com os resultados obtidos em seus estudos, isso é verídico apenas para o comportamento do cavalo, enquanto a maioria dos parâmetros da função cardíaca reflete uma reação significativa ao toque onde a FC e a relação LF/HF permaneceram elevadas durante a manipulação das distintas regiões corporais dos animais, enquanto o índice RMSSD reduziu, o que representa um predomínio do componente simpático do SNA durante a manipulação dos equinos.

3. HIPÓTESES

1) Hipótese nula: o período gestacional não acarreta em modificações na atividade do SNA em ovelhas, não havendo oscilações nos índices de VFC materna.

Hipótese alternativa: o período gestacional acarreta em modificações na atividade do SNA em ovelhas sendo essas ilustradas pelos índices de VFC.

2) Hipótese nula: a avaliação cardíaca ultrassonográfica em fetos ovinos não representa um método que pode ser empregado para pesquisas em fetos humanos, uma vez que não há semelhanças entre as espécies no desenvolvimento cardíaco fetal.

Hipótese alternativa: a avaliação cardíaca ultrassonográfica em fetos ovinos representa um método que pode ser empregado para pesquisas em fetos humanos, havendo semelhanças entre as espécies.

3) Hipótese nula: a técnica de ultrassonografia fetal permite acessar o tamanho cardíaco fetal não havendo limitações a campo que possam comprometer a análise.

Hipótese alternativa: a técnica de ultrassonografia fetal permite acessar o tamanho cardíaco fetal porém limitações a campo devem ser consideradas para a análise.

4) Hipótese nula: não há modificações na atividade do SNA no período fetal em ovinos da raça Dorper não podendo a VFC ser empregada nessa espécie como fator prognóstico para ilustrar o comprometimento da higidez fetal.

Hipótese alternativa: a atividade do SNA pode ser ilustrada pelos índices de VFC em fetos ovinos da raça Dorper sendo a VFC um método que pode contribuir para demonstrar o comprometimento da saúde fetal.

5) Hipótese nula: os parâmetros clínicos, o exame ecodopplercardiográfico e a VFC não são eficazes para ilustrar as modificações hemodinâmicas que ocorrem na gestação na espécie ovina, não podendo os mesmos serem empregados para auxiliar no acompanhamento materno durante a gestação em ovelhas.

Hipótese alternativa: os parâmetros clínicos, o exame ecodopplercardiográfico e a VFC podem ilustrar as modificações hemodinâmicas

que ocorrem na gestação também na espécie ovina, onde as ovelhas podem ser assistidas durante o período gestacional, o que pode contribuir para otimizar o manejo da fêmea prenhe e reduzir prejuízos econômicos no setor do agronegócio.

4. OBJETIVOS

a. OBJETIVOS GERAIS

Descrever o comportamento da VFC e as alterações nos parâmetros ecocardiográficos que ocorrem durante o período pré-natal e pós-natal em animais da espécie ovina.

b. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1 - Avaliar o desenvolvimento cardíaco fetal em ovinos durante os meses gestacionais, uma vez que, devido às semelhanças do coração nas duas espécies, ovinos podem ser empregados em estudos experimentais em neonatologia humana para diagnóstico e intervenção precoce de cardiopatias congênitas, onde as mesmas representam o maior custo hospitalar por doenças congênitas em países de primeiro mundo.

2 - Discorrer sobre as limitações da técnica de ultrassonografia fetal a campo.

3 - Avaliar o comportamento da VFC fetal, da FCF em fetos ovinos da raça Dorper, a atividade do SNA na vida fetal e seu emprego como fator prognóstico, bem como em cordeiros após o nascimento, o que pode contribuir para otimizar os custos com animais de produção reduzindo perdas, uma vez que a atividade do SNA pode ser considerada um índice prognóstico.

4 - Avaliar as alterações nos parâmetros ecocardiográficos durante o período gestacional em ovelhas, bem como os índices de VFC e parâmetros clínicos maternos no mesmo período referido, uma vez que nessa fase ocorre uma série de modificações fisiológicas, o que também permite empregar a espécie em pesquisas translacionais, já que o coração ovino assemelha-se ao humano, podendo contribuir para pesquisas no que se refere em desenvolvimento de cardiopatias na gestação em mulheres e acompanhar a evolução da gestação em ovelhas reduzindo os riscos à saúde materna e perdas nesse período.

CAPÍTULO II

TRABALHOS CIENTÍFICOS

Seção 1

Artigo submetido para a revista Animal Reproduction Science

ECHOCARDIOGRAPHIC EVALUATION IN DORPER OVINE FETUSES: APPLICATIONS AND LIMITATIONS

Cruz-Aleixo, A.S.¹; Lima, M.C.F.²; Albuquerque, A.L.H.³; Teixeira, R.T.⁴; Paula,
R.A.⁵; Grandi, M.C.⁶; Ferreira, D.O.L.⁷; Tsunemi, M.H.⁸; Chiacchio, S.B.⁹; Lourenço,
M.L.G.¹⁰

¹São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: amanda.cruz21@hotmail.com

²São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: mayracfl@hotmail.com

³São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: luisahdealbuquerque@gmail.com

⁴São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: rapha.teixeira@hotmail.com

⁵São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: _medvetrenata@hotmail.com

⁶Diplomate in Veterinary Medicine, Lençóis Paulista, São Paulo, Brazil; email: grandi_vet@yahoo.com.br

⁷Secretary Agriculture of the State of São Paulo, Coordination of Integral Technical Assistance, Office of Development of Bauru, Brazil; email: ferreiradol@gmail.com

⁸São Paulo State University (Unesp), Institute of Biosciences, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: m.tsunemi@unesp.br

⁹São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: sb.chiacchio@unesp.br

¹⁰São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: *Corresponding author: maria-lucia.lourenco@unesp.br

25 **Abstract**

26 In this study we aim to show the application of ultrasound evaluation of the fetal heart in
27 the ovine species, as well as its limitations in the field. Ten Dorper sheep, without any
28 sedation, were evaluated starting from the second month of pregnancy through
29 transabdominal ultrasound with an ultrasound device equipped with a convex transducer.
30 Images of the fetal heart were obtained through maternal abdominal ultrasound by
31 identifying the position of the fetus and conducting the following measurements: length
32 and diameter of the heart, dimensions of the right and left ventricles, and dimensions of the
33 right and left atriums. The measurements could only be conducted with acceptable
34 precision starting from the third month of pregnancy. There was a significant difference
35 only for left ventricle diameter, which was higher on the fifth month of pregnancy. The
36 echocardiographic evaluation of the fetus enables monitoring the heart development
37 identifying fetal viability early, assessing inadequate events that could put the pregnancy
38 at risk, especially for production animals. For the experimental design of research
39 employing production animals, it is important to consider, among other factors, the
40 limitations of the evaluation on the field, such as restraining the animals, the stress caused
41 by handling and environmental conditions, temperature, luminosity, facilities available e
42 qualifications of the team.

43 **Keywords:** heart, development, pregnancy, sheep, ultrasound, fetal monitoring

44 **1. Introduction**

45 Ultrasound monitoring of the fetal heart is extremely important to detect congenital
46 anomalies [11, 22]. Transabdominal and rectal ultrasonography are used to detect twins,
47 document foetal position, estimate foetal size, evaluate placental integrity and foetal fluid
48 clarity, and gain a general impression of foetal well-being [13].

49 In humans and animals, fetal heart rate pattern, level of activity, and degree of muscle
50 tone are sensitive to hypoxaemia and acidaemia. Techniques such as cardiotocography,
51 ultrasonography and maternal perception of fetal movement can identify fetuses that are
52 either suboptimally oxygenated or acidaemic because of placental dysfunction [25]. In
53 human medicine, biometric alterations in the structure of the heart are assessed using fetal
54 size parameters when there are suspicions of congenital cardiopathies or growth alterations
55 in the heart unrelated to cardiac diseases [10,12], and fetal echocardiography has become
56 the standard prenatal diagnostic test for fetuses with suspicions of heart anomalies [21].
57 During pregnancy, the heart of the fetus undergoes several modifications until the
58 formation of the blood vessels, when it becomes the central organ responsible for pumping
59 the blood to the organism through rhythmic contractions [20].

60 Detecting pregnancy early in sheep is of utmost importance for identifying animals
61 that are sterile or unsuitable for reproduction for slaughter. However, it is difficult to
62 differentiate between failures to return to estrus due to the occurrence of seasonal anestrus
63 at the end of the reproductive period [8]. The diagnosis of pregnancy in sheep involves an
64 economic component for the producers and, when done early, is useful to adequate the
65 nutritional handling of the animals and reduce the risk of toxemia during pregnancy [1, 4,
66 7].

67 This study aimed at, after the diagnosis of pregnancy, assessing the cardiac
68 development in ovine fetuses during pregnancy considering that the species is often used
69 in experimental studies in human neonatology due to the similarities of the hearts of both
70 species. Identifying the size of the heart and possible congenital cardiopathies may
71 contribute towards further research about surgical techniques at the fetal stage. The study
72 also aimed at discussing the technical limitations of the ultrasound technique in the field.

73 2. Methods

74 *Animals*

75 Ten Dorper sheep (*Ovis aries*) were evaluated starting from the second month of
76 pregnancy. The sheep were selected and submitted to general clinical examination. Sheep
77 that presented alterations in clinical conditions or body score were excluded. All sheep in
78 the study were properly vaccinated and dewormed. The average age of the females was
79 4.4 ± 1.35 years (minimum two years and maximum seven years).

80 The ewes were kept in a semi-finishing system, receiving feed twice a day. The
81 composition of the mixture was 65% ground corn, 10% wheat bran, 20% soybean meal and
82 5% CN (core) for sheep. The basic composition of the CN consisted of: calcium (minimum)
83 120.0 g / kg; calcium (maximum) 220 g / kg; phosphorus (minimum) 18.00 g / kg; sodium
84 (minimum) 78.00 g / kg; magnesium (minimum) 7700.00 mg / kg; potassium (minimum)
85 10.00 g / kg; iron (minimum) 250.00 mg / kg; zinc (minimum) 1875.00 mg / kg; manganese
86 (minimum) 650.00 mg / kg; iodine (minimum) 30 mg / kg; selenium (minimum) 8.00 mg
87 / kg; cobalt (minimum) 20.00 mg / kg; monesine 600.00 mg / kg.

88 The study was conducted according to the animal welfare guidelines and approved by
89 the Ethics Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal
90 Science at the São Paulo State University, Botucatu, São Paulo, Brazil, under protocol
91 CEUA-0174/2016, and authorized by the owner, who consented to the experimental plan
92 and the procedures conducted.

93 The study was conducted on a property located at the city of Botucatu, SP, Brazil, on
94 the Rubiao Junior district, latitude S-22.902107 and longitude W-48.516534, from July
95 2017 to December 2017. 20 non-pregnant sheep assessed by ultrasound prior to the study
96 and submitted them to the estrus-inducing protocol for fixed-time artificial insemination
97 (FTAI).

98 *FTAI protocol*

99 The protocol consisted on the implantation of a progesterone device (0.33g
100 progesterone, CIDR®) at day 0 (D0). The device was removed after 12 days (D12) and
101 400 UI of equine chorionic gonadotropin (eCG). The sheep were inseminated 52 to 56
102 hours after the removal of the progesterone device (CIDR®). The rate of pregnancy after
103 FTAI was 70% (14 sheep with confirmed pregnancies) and the rate of successful births for
104 these sheep was 100%. Ten of these sheep were selected for the study, as proposed initially
105 in the experimental design, which recommended the insemination of more animals than
106 strictly needed in order to avoid possible failures in the protocol and avoid compromising
107 the number of animals in the study. Of the 20 inseminated ewes, 14 had a positive
108 pregnancy rate, and 10 animals were randomly chosen from the 14 that had a positive
109 pregnancy rate.

110 Table 1 shows the reproductive data for prolificity and sex distribution of the lambs
111 born from each sheep included in the study, as well as the age of the mother.

112 *Fetal ultrasound evaluation*

113 The first data from the fetuses was collected starting at 42 days after the FTAI protocol,
114 since it is recommended that animals are not to be handled for a period of at least 28 days
115 after the protocol to avoid losing embryos due to excessive handling. For the ultrasound
116 evaluation of the fetuses, the study employed a portable ultrasound device My LabTM30
117 Vet Gold (Esaote®-Esaote Healthcare do Brasil, São Paulo-SP, Brazil) equipped with a
118 convex transducer and frequency of 5.0 MHz. Imaging exams were always performed by
119 the same operator (ASCA).

120 To acquire the images, the abdominal region of the mother was properly epilated and
121 cleaned. The transabdominal method was made with the sheep in stationary position
122 through physical restraints (manual), with the operator positioned laterally to the animal.

123 The transducer placed at the region of the right caudal abdominal quadrant, near the
124 inguinal region (figures 1 and 2), initially to identify the fetus, but due to the movement of
125 the fetus the transducer was repositioned to identify the cardiac region. Therefore, the
126 transducer was positioned to obtain longitudinal sections of the fetus and subtle rotational
127 adjustments were made until images similar to those obtained through conventional
128 echocardiography were obtained.

129 For each fetus, after identifying the cardiac chambers, the cardiac parameters were
130 measured, if possible, using bidimensional fetal echocardiography through transabdominal
131 ultrasound of the pregnant sheep. The parameters measured were length and diameter of
132 the heart, dimensions of the right and left ventricles, and dimensions of the right and left
133 atriums (figures 3, 4, 5 and 6). When the fetuses were twins, the measurements were taken
134 only from one fetus and the measurements were not conducted when the position of the
135 fetus was unsuitable for measurements.

136 The cardiac chambers were measured at their highest diameter, at the end of diastole.
137 The atrial measurements were taken from the atrial walls and the ventricular measurements
138 from the segments where the mitral and tricuspid valves close, excluding the
139 interventricular septum. Measurements were taken preferentially with the fetus in a
140 longitudinal position, with the spine of the fetus parallel to the maternal spine.
141 Measurements were not taken with the fetuses in transversal or oblique positions.

142 *Statistical analysis*

143 The results are shown as means, standard deviations, minimum and maximum values,
144 interquartile ranges. The normality test employed to analyze the parameters was the
145 Kolmogorov-Smirnov test; comparison between the proposed moments was conducted
146 employing Friedmann's test. The significance level considered for the study was 5%.

147 3. Results

148 Of the ten females assessed in the study, eight were pregnant with a single fetus and two
149 were pregnant with twins. Table 2 shows the echocardiographic parameters of the fetus
150 obtained in this study, with the measurements being feasible starting from the third month
151 of pregnancy due to the size of the heart.

152 These results show that the largest dimensions for each echocardiographic variable
153 happened at the five month of pregnancy. The measured parameters do not present
154 statistically significant differences between each moment, except for the diameter of the
155 left ventricle (LV). Despite the absence of significant difference between the evaluated
156 periods, we observed that the LV diameter and the cardiac length, as well as the dimensions
157 of the atrial and ventricular chambers, accompanied the fetal development.

158 4. Discussion

159 The fetal evaluations started at the second month of pregnancy in this study, but at that
160 time it was not possible to measure the cardiac chambers due to the small size of the heart
161 and a worsened visualization caused by overlaps and artifacts when acquiring the images,
162 including the maternal adipose tissue, excessive fetal movement and the maternal
163 gastrointestinal tract, which is something that also happen in humans, who suffer
164 interference from high maternal body mass scores and the depth of the fetus [9, 24].

165 Starting at the third month of pregnancy, it was possible to assess the fetal heart, but the
166 quality of the images was higher in the last month of pregnancy, which is in line with the
167 cardiac evaluation in human fetuses. In humans, the beats of the fetal heart can be viewed
168 by bidimensional echocardiography starting at the sixth week of pregnancy [3], but an
169 adequate structural analysis is only possible starting at the 16th week. During this period,
170 the fetal heart is still very small and a complete study is often not possible [9].

171 This study observed artifacts when acquiring the images, caused mostly by the maternal
172 adipose tissue layer, tissue overlap on twin fetuses and acoustic shadows created by the
173 contents of the maternal gastrointestinal tract since the stomachs of ruminants interfere in
174 the evaluation when they are full and the sheep included in the study were not fasting before
175 the fetal evaluation. In humans, fetal evaluation presents better windows to acquire the
176 images, but artifacts causing shadows in the cardiac region also happen, mostly due to
177 maternal obesity. The ideal window to observe the fetal heart in humans goes from the 18th
178 to the 24th week of pregnancy, when the fetus is covered in a large volume of amniotic
179 liquid [14, 26]. During the third trimester, the spine of the fetus is often anterior and the
180 ribs are more calcified, creating shadows in the cardiac area and causing difficulties
181 towards an adequate assessment of the fetal heart at this stage [2].

182 In this study, the echocardiographic evaluation of the fetus during the second month of
183 pregnancy observed that the dimensions of the heart were relatively small, but as the
184 pregnancy progressed, we noted that, despite the larger measurements of the heart, there
185 were still artifacts. We believe that this may be explained by the movement of the fetus,
186 which was exacerbated by maternal agitation due to handling. In addition, the breed
187 selected may have contributed due to the abundant layer of adipose tissue.

188 We also consider important to note the technical limitations that happen when
189 conducting imaging examination on the field. Both the experimental design and the
190 behavior of the animal should be considered when acquiring ultrasound images. The
191 animals included in the study were restless during handling, which translated into more
192 fetal movement as the restlessness of the mothers increased, which represented a limiting
193 factor to acquiring the images. In addition, some images were acquired closer to the
194 inguinal region, which caused discomfort to the mothers and resulted in excessive
195 movement of the pelvic limbs in this context.

196 Vincze et al. (2019) [25] conducted a study to evaluate equine fetal parameters using
197 transabdominal ultrasonography by compiling six factors: fetal heart rate, fetal aortic
198 diameter, maximal fetal fluid depth, uteroplacental contact, uteroplacental thickness, and
199 fetal activity. The authors concluded that equine fetal tests do not reach the high accuracy
200 of human surveillance tests but are promising tools for later development on large patient
201 groups.

202 The Technical Bulletin for cardiac ultrasound examinations in human fetuses issued by
203 the AIUM (American Institute of Ultrasound in Medicine) (2013) recommends that fetal
204 echocardiographic examinations should be conducted between the 18th and 22nd weeks of
205 pregnancy. This is when the quality of the images is ideal, resulting in more precise
206 diagnoses, but even at 18 weeks the fetal heart is a small structure [6] and even at later
207 stages of the pregnancy, the echocardiographic evaluation may be compromised by an
208 attenuation caused by the cranium, ribs, spine or limbs of the fetus, or by the reduction in
209 the levels of amniotic liquid as the pregnancy progresses [14].

210 In our study, as is the case in humans, the dimensions of the RV and LV were very
211 similar and within a centimeter, which highlights the similarities between the hearts of both
212 species and justifies the use of ovines as experimental models for cardiovascular research.
213 In humans, the cardiac cavities triple or quadruple their size from the 17th week until the
214 end of the pregnancy, revealing a linear growth pattern regarding age and diameter [27].
215 The ratio of the dimensions of the LV and the RV was around one and remained constant
216 throughout the pregnancy. The measurements of the ventricles are similar, but we have to
217 consider that the geometries of the right and left ventricles are different, as are the
218 morphologies of the trabeculae and ventricular exits [18].

219 Translational studies are developed to better reproduce human physiological conditions
220 and the main advantage of animal trials is that the controls may be selected according to

221 their adequation rather than to what is permissible in a patient [23]. The experimental
222 environment is an important factor, particularly in sheep, which are animals that do not
223 adapt favorably to handling and alter their behavior. Different imaging techniques should
224 be considered according to the situation; in this study, with the sheep kept stationary, we
225 chose the transabdominal technique in lieu of the transrectal technique, but dorsal decubitus
226 may represent an alternative to make acquiring the images, since containing the animal is
227 easier in this position.

228 The transrectal examination is more efficient than the transabdominal method until the
229 35th day of pregnancy. Between the 35th and 70th days of pregnancy, both methods appear
230 to be equally efficient. During the second half of the pregnancy, the transabdominal
231 technique allows better accuracy due to the position of the intrapelvic uterus, located above
232 the bladder and the horns deviate in a ventrolateral direction. In the final third of the
233 pregnancy, due to the development of the fetal membranes and the accumulation of fluids,
234 the uterus deviates in a cranioventral direction inside the abdomen [17]. Therefore, we
235 chose the transabdominal technique for this study also due to the changes in the position
236 of the uterus that happen as the pregnancy progresses.

237 Other factors to be considered for fetal cardiac evaluation of the ovine field are the
238 operator's experience, since the ideal is that the tests be performed in a short time to avoid
239 animal stress; the number of fetuses and the breed are also relevant in this context, since,
240 in the Dorper breed, the evident adipose tissue promotes artifacts in the acquisition of the
241 image and the animals of the present study were in a corporal score of 4.5, being overweight
242 due to overfeeding. Reef et al. (1996) [16] refer that time is also a critical point in evaluation
243 of equine fetuses by ultrasound technique, because horses usually get bored within a few
244 minutes and are not very co-operative without sedation. The use of sedatives should be
245 minimized or avoided in pregnant animals. The faster the examination the more time can

246 be saved for the diagnosis. According to the authors, in equine hospitals, several
247 transducers are available with trained personnel, but under field conditions this is hardly
248 achievable, evidencing that the ultrasound evaluation in the field has its restrictions.

249 In the present study we evaluate only fetal cardiac measurements. We did not employ
250 the Doppler method for HR assessment which could have contributed in the assessment of
251 fetal viability. However, qualitative analysis allows the identification of cardiac chambers,
252 and heart valves may assist in the suspicion of congenital heart disease when cardiac size
253 does not follow development or when cardiac chambers and valves are identified with
254 inadequate positioning. The ultrasound method is widely used for pregnancy diagnosis in
255 the agricultural sector. Since it is already used in reproductive practices, extending analysis
256 for fetal heart evaluation, even through qualitative analysis, can optimize pregnancy
257 management, where detection of cardiac structural abnormalities or reduced movement of
258 heart chambers may allow intervention in pregnancy, reducing losses and / or costs with
259 unviable animal.

260 Curran and Ginther (1995) [5] conducted a study to evaluate fetal HR in horses by
261 comparing M (unidimensional) B (two-dimensional) mode using a chronometer in the
262 latter. The authors reported that there was a significant increase in fetal HR in the first two
263 months of pregnancy and a significant reduction from the third gestational month for both
264 techniques. There were also differences between the techniques where, according to the
265 authors, the lowest fetal HR values for the chronometer technique (Mode B) during the
266 first three months of pregnancy were due to the difficulty associated with the continuous
267 maintenance of the transducer in the fetal heart by adequate time and the difficulty of
268 counting HR fast enough to accompany the fetal heart. Thus, transabdominal ultrasound
269 was effective to demonstrate fetal HR behavior, but there are also limitations in this area,
270 as mentioned by the above authors.

271 Therefore, fetal evaluation is important to identify potential risks to the fetuses and
272 allow them to benefit from early interventions, avoiding adverse effects that could
273 potentially lead to death, particularly in high-risk pregnancies. According to Nomura et al.
274 (2009) [15], one of the adaptative responses of the fetus to hypoxemia is a hemodynamic
275 compensation mechanism involving the stimulation of the autonomic nervous system of
276 the fetus, resulting in increased peripheral vascular resistance and heart rate in the fetus. In
277 cases of placental alterations and progressive fetal hypoxemia, abnormalities in the fetal
278 heart rate are considered early signs of a compromised fetus. Reductions in fetal movement
279 may be associated with congenital abnormalities, which is also something that may be
280 identified by maternal transabdominal ultrasound, highlighting the importance of the
281 method for intrauterine life.

282 Some limitations are attributed to the present study. The relatively small sample size
283 may have contributed to nonsignificant results and a larger animal sample could have more
284 clearly explained cardiac development. In the analysis of twin fetuses, it was not possible
285 to ensure that the measurement of the cardiac size of the same fetus would be performed at
286 all times of collection. We did not use the Doppler method to assess fetal heartbeat, which
287 could have contributed to assess HR behavior and fetal viability to a greater extent.
288 Postmortem cardiac size assessment could more effectively represent heart size and
289 development but was not performed in the present study.

290 **5. Conclusions**

291 The dimensions of the heart follow the development of the fetus and sheep dimensions
292 are similar to the observed in humans. This is important for monitoring pregnancy for fetal
293 viability, since in the absence of fetal viability, pregnancy can be ruled out, resulting in
294 negative economic impacts on producers, especially in inseminated animals, where
295 investments for good quality semen acquisition as well as pregnancy maintenance are high

296 and its return depends on the success rate of animals with pregnancy positive insemination.
 297 However, the experimental environment, operator experience, the number of fetuses and
 298 the breeds chosen are factors that should be considered when acquiring ultrasound images.
 299 Fetal ultrasound allows assessing fetal viability, one of the main goals of fetal evaluations,
 300 and is extremely important to identify fetuses in risk and allow short-term interventions.

301 **Conflicts of interest**

302 The authors declare no conflicts of interest.

303 **Acknowledgments**

304 To FAPESP for the research assistance.

305 **Financing**

306 This work was supported by FAPESP (Research Support Foundation of the State of São
 307 Paulo), number 2017/15121-9.

308 **6. References**

- 309 [1] Aiumlamai S, Fredricksson, G Nislfors, L. Real-time ultrasonography for determining
 310 the gestacional age of ewes. Vet Rec 1992; 131:560–62. [https://doi: 10.1136/vr.131.24.560](https://doi:10.1136/vr.131.24.560)
- 311 [2] Allan LD. Cardiac anatomy screening: what is the best time for screening in pregnancy?
 312 Curr Opin Obstet Gynecol 2003; 15:143–46. [https://doi:](https://doi:10.1097/01.gco.0000063541.93768.74)
 313 [10.1097/01.gco.0000063541.93768.74](https://doi:10.1097/01.gco.0000063541.93768.74)
- 314 [3] Carvalho JS, Moscoso G, Tekay A, Campbell S, Thilaganathan B, Shinebourne EA.
 315 Clinical impact of first and early second trimester fetal echocardiography on high risk
 316 pregnancies. Heart 2004 90:921–26. <https://doi:0.1136/hrt.2003.015065>.
- 317 [4] Chalhoub M, Prestes NC, Lopes MD, Ribeiro-Filho AL, Lopes RM, Trinca LA.
 318 Relationship between craniocaudal length and embryonic / fetal vesicle diameter at

- 319 gestation age by ultrasound evaluation in Bergamacia sheep. Arq Bras Med Vet Zootec
 320 2001; 53:71-7. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352001000100011>
- 321 [5] Curran S, Ginther OJ. M-Mode ultrasonic assessment of equine fetal heart rate.
 322 Theriogenology 1995; 44:609-17. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(95\)00241-Y](https://doi.org/10.1016/0093-691X(95)00241-Y)
- 323 [6] Drose JA. Fetal echocardiography. 1st ed. Rio de Janeiro: Rio de Janeiro. 2001.
- 324 [7] Fridlund C, Humblot P, Båge R, Söderquist L. Factors affecting the accuracy of
 325 pregnancy scanning in ewes. Vet Rec 2013; 24:1–5. <https://doi: 10.1136/vr.101935>
- 326 [8] Garcia A, Neary MK, Pierson RA. Accuracy of ultrasonography in early pregnancy
 327 diagnosis in the ewe. Theriogenology 1993; 39:847–61. [https://doi.org/10.1016/0093-](https://doi.org/10.1016/0093-691X(93)90423-3)
 328 [691X\(93\)90423-3](https://doi.org/10.1016/0093-691X(93)90423-3)
- 329 [9] Gardiner HM. Fetal echocardiography: 20 years of progress. Heart 2001; 86:12–22.
 330 https://doi: 10.1136/heart.86.suppl_2.ii12
- 331 [10] Giannico AT, Gil EMU, Garcia DAA, Sousa MG, Froes TR. Canine fetal
 332 echocardiography: correlations for the analysis of cardiac dimensions. Vet Res Commun
 333 2016; 40:11–19. <https://doi: 10.1007/s11259-015-9648-z>
- 334 [11] Kovalchin JP. Impact of Fetal Echocardiography. Pediatr Cardiol 2004; 25:299–306.
 335 <https://doi: 10.4103/0974-2069.52806>
- 336 [12] Kulkarni S. Does fetal echo help the fetus? Annals of Pediatr Cardiol 2013; 6:21–23.
 337 PMID: 23626430.
- 338 [13] Le Blanc MM. Equine perinatology: What we know and what we need to know. Anim
 339 Reprod Sci 1996; 42:189-96. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(96\)01506-0](https://doi.org/10.1016/0378-4320(96)01506-0)
- 340 [14] Lopes L. Fetal echocardiography. 1st ed. Rio de Janeiro: Rio de Janeiro. 2016

- 341 [15] Nomura RMY, Miyadahira S, Zugaib M. Evaluation of antepartum fetal vitality. Rev
 342 Bras Ginecol Obstet 2009; 31:513-26. [http://dx.doi.org/10.1590/S0100-](http://dx.doi.org/10.1590/S0100-72032009001000008)
 343 [72032009001000008](http://dx.doi.org/10.1590/S0100-72032009001000008)
- 344 [16] Reef VB, Vaala WE, Worth LT, Sertich PL, Spencer PA. Ultrasonographic assessment
 345 of fetal well-being during late gestation: development of an equine biophysical profile.
 346 Equine Vet J 1996; 28:200-08. <http://doi:10.1111/j.2042-3306.1996.tb03773.x>
- 347 [17] Renaudin CD, Troedsson MHT, Gillis CL, King VL, Bodena A. Ultrasonographic
 348 evaluation of the equine placenta by transrectal and transabdominal approach in the normal
 349 pregnant mare. Theriogenology 1997; 47:559-73. [http://doi:10.1016/S0093-](http://doi:10.1016/S0093-691X(97)00014-9)
 350 [691X\(97\)00014-9.](http://doi:10.1016/S0093-691X(97)00014-9)
- 351 [18] Rublin S, Damani PM, Pinto ER. Cardiac size and performance during pregnancy
 352 estimated with echocardiography. Am J Cardiol 1977; 40:534-40.
 353 [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(77\)90068-6.](https://doi.org/10.1016/0002-9149(77)90068-6)
- 354 [19] Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Schiller NB. Guidelines for the
 355 echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American
 356 Society of Echocardiography endorsed by the European Association of Echocardiography,
 357 a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of
 358 Echocardiography. J Am Soc Echocardiogr 2010; 23:685-713.
 359 [https://doi.org/10.1016/j.echo.2010.05.010.](https://doi.org/10.1016/j.echo.2010.05.010)
- 360 [20] Saul JP, Schawartz PJ, Ackerman MJ, Triedman JK. Rationale and Objectives for
 361 ECG Screening in Infancy. Heart Rhythm 2014; 11:2316-321. [https://doi:](https://doi:10.1016/j.hrthm.2014.09.047)
 362 [10.1016/j.hrthm.2014.09.047](https://doi:10.1016/j.hrthm.2014.09.047)

- 363 [21] Smrcek JM, Berg C, Geipel A, Fimmers R, Diedrich K, Gembruch U. Early Fetal
 364 Echocardiography Heart Biometry and Visualization of Cardiac Structures Between 10 and
 365 15 Weeks' Gestation. *J Ultrasound Med* 2006; 25:173–82.
 366 <https://doi.org/10.7863/jum.2006.25.2.173>.
- 367 [22] Suguna K, Mehrotra S, Agarwal SK, Hoque M, Singh SK, Shanker U., Sarath T. Early
 368 pregnancy diagnosis and embryonic and fetal development using real time B mode
 369 ultrasound in goats. *Small Ruminant Res* 2008; 80:80–6.
 370 <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.10.002>
- 371 [23] Swanson AM, David AL. Animal models of fetal growth restriction: considerations
 372 for translational medicine. *Placenta* 2015; 36: 623–30. [https://doi:](https://doi.org/10.1016/j.placenta.2015.03.003)
 373 [10.1016/j.placenta.2015.03.003](https://doi.org/10.1016/j.placenta.2015.03.003)
- 374 [24] Tatani SB. Fetal Echocardiography. Introducing the Method. *Arq Bras Cardiol* 1997;
 375 69:197-201. <http://dx.doi.org/10.1590/S0066-782X1997000900011>
- 376 [25] Vincze B, Baska F, Papp M, Szenci O. Introduction of a new fetal examination
 377 protocol for on-field and clinical equine practice. *Theriogenology* 2019; 125: 210-15.
 378 [https://doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.11.004](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.11.004)
- 379 [26] Wiley J. Cardiac screening examination of the fetus: guidelines for performing the
 380 'basic' and 'extended basic' cardiac scan. *Ultrasound Obst Gyn* 2006; 27:107–13.
 381 [https://doi: 10.1002/uog.2677](https://doi.org/10.1002/uog.2677)
- 382 [27] Yagel S, Cohen SM, Messing B. First and early second trimester fetal heart screening.
 383 *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 2007; 19:183–90. [https://doi:](https://doi.org/10.1097/GCO.0b013e3280895de6)
 384 [10.1097/GCO.0b013e3280895de6](https://doi.org/10.1097/GCO.0b013e3280895de6).

385 **Figure 1.** Transabdominal ultrasound method in Dorper sheep. Position of the mother and
386 the transducer.

387 **Figure 2.** Position of the operator and the demonstration of inguinal region for fetal
388 identification in Dorper sheep.

389 **Figure 3.** Schematic representation of a longitudinal section of the four cardiac chambers
390 showing the length and diameter measurements of the fetal heart.

391 **Figure 4.** Fetal echocardiogram (4th month) in an ovine. Longitudinal section on the long
392 axis showing the four cardiac chambers of the fetus.

393 **Figure 5.** Schematic representation of a longitudinal section showing the measurements of
394 the atrial and ventricular chambers.

395 **Figure 6.** Fetal echocardiogram (4th month) in an ovine. Longitudinal section on the long
396 axis showing the ventricular and atrial chambers.



Figure 1. Transabdominal ultrasound method. Position of the mother and the transducer.



Figure 2. Position of the operator and the demonstration of inguinal region for fetal identification.

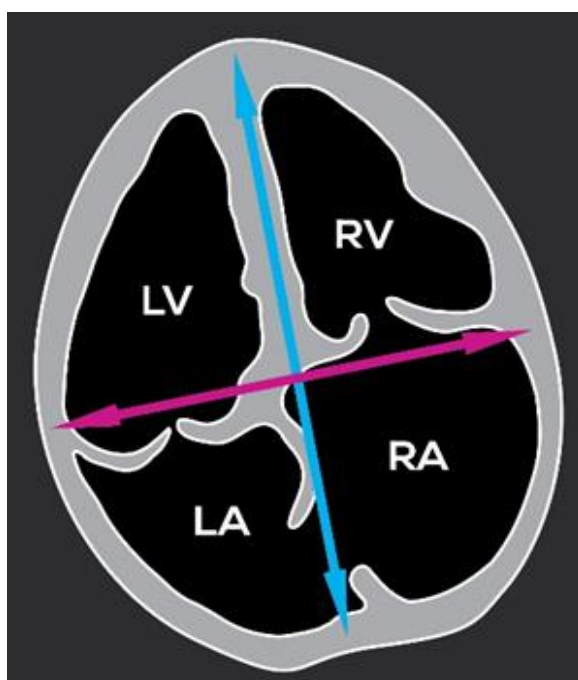


Figure 3. Schematic representation of a longitudinal section of the four cardiac chambers showing the length and diameter measurements of the fetal heart.

Adapted from Giannico et al. 2016.

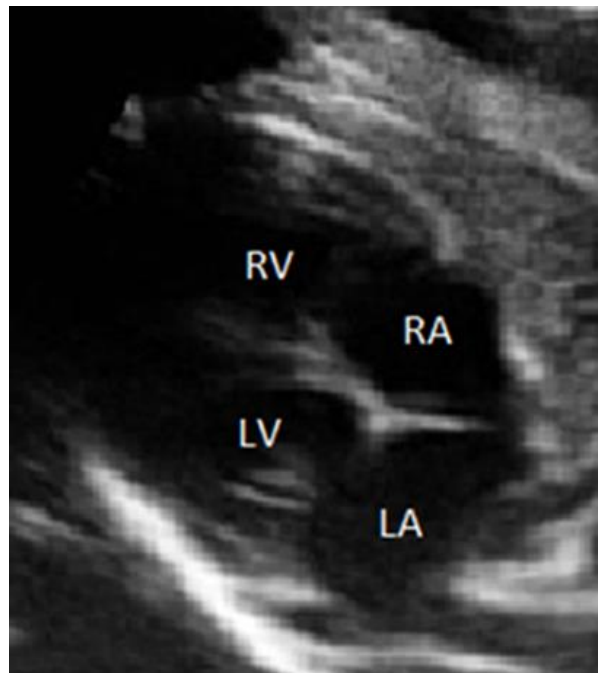


Figure 4. Fetal echocardiogram (4th month) in an ovine. Longitudinal section on the long axis showing the four cardiac chambers of the fetus.

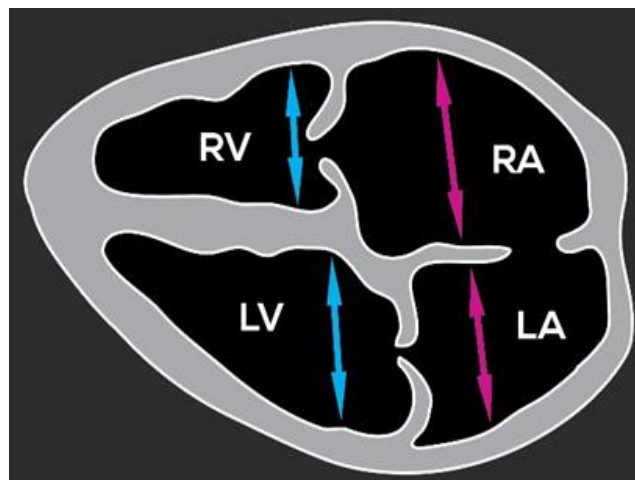


Figure 5. Schematic representation of a longitudinal section showing the measurements of the atrial and ventricular chambers.

Adapted from Giannico et al. 2016.

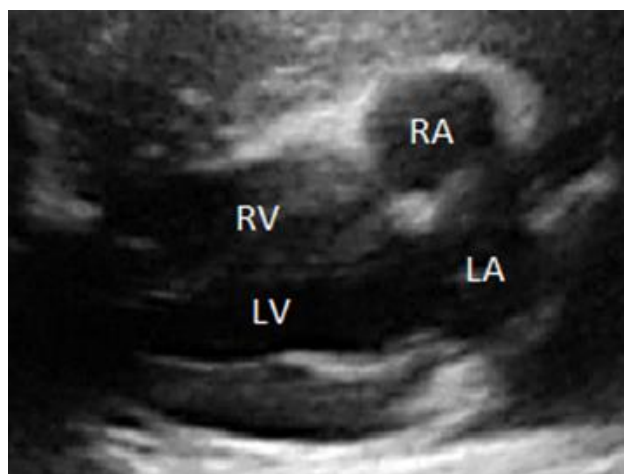


Figure 6. Fetal echocardiogram (4th month) in an ovine. Longitudinal section on the long axis showing the ventricular and atrial chambers.

397 Table 1. Reproductive data (prolificity, sex distribution of lambs) and age of the Dorper
 398 sheep that underwent the fixed-time artificial insemination protocol.

Mother	Age (years)	Prolificity	Sex distribution of the lambs
1	2	1	1 (1F, 0M)
2	5	5	9 (4F, 5M)
3	3	1	1 (1F, 0M)
4	7	6	11 (7F, 4M)
5	4	4	7 (1F, 6M)
6	5	6	7 (3F, 4M)
7	5	5	6 (3F, 3M)
8	5	4	6 (4F, 2M)
9	4	3	3 (3F, 0M)
10	4	3	4 (3F, 1M)

F = female; M = male

Table 2 – Fetal echocardiographic evaluation (diastole) (mean, standard deviation, minimum, maximum, quartile intervals) in Dorper ovines.

Measurement (cm)	3 rd month	1 st quartile	3 rd quartile	4 th month	1 st quartile	3 rd quartile	5 th month	1 st quartile	3 rd quartile	p
Long axis	3.27±1.35 (2.66;3.79)	2.81	3.70	3.87±0.46 (3.28;6.35)	3.31	3.94	4.32±1.32 (2.97;6.35)	3.18	5.53	0.411
Heart diameter	2.51±0.35 (2.11;3.07)	2.22	2.86	2.64±0.38 (2.34;3.10)	2.38	3.02	2.98±0.52 (2.38;3.75)	2.52	3.44	0.241
RA Diameter	1±0.47 (0.44;1.70)	0.61	1.44	1.06±0.26 (0.75;1.42)	0.84	1.32	1.31±0.36 (0.81;1.70)	1.00	1.65	0.204
LA Diameter	0.79±0.22 (0.51;1.15)	0.63	0.98	0.87±0.33 (0.61;1.42)	0.64	1.15	1.04±0.23 (0.85;1.42)	0.86	1.23	0.211
RV Diameter	0.74±0.28 (0.41;1.16)	0.51	0.99	1.01±0.29 (0.63;1.27)	0.70	1.25	1.02±0.32 (0.72;1.53)	0.77	1.27	0.623
LV Diameter	0.62±0.21 (0.44;0.75)	0.47	0.73	0.65±0.09 (0.54;0.98)	0.56	0.80	0.82±0.20 (0.63;1.07)	0.63	1.03	*0.030

Kolmogorov-Smirnov normality test; comparison between moments, Friedmann's test; interquartile intervals for multiple comparisons; *significance: $p < 0.05$; RA: right atrium; LA: left atrium; RV: right ventricle; LV: left ventricle

Seção 2

Artigo para ser enviado à revista Small Ruminant Research

Avaliação cardiovascular perinatal em ovelhas da raça Dorper: descrição ecocardiográfica e comportamento da variabilidade da frequência cardíaca

Cruz-Aleixo, A.S.¹; Lima, M.C.F.²; Albuquerque, A.L.H.³; Teixeira, R.T.⁴; Paula, R.A.⁵; Grandi, M.C.⁶; Ferreira, D.O.L.⁷; Albertino, L.G.⁸; Tsunemi, M.H.⁹; Chiacchio, S.B.¹⁰; Lourenço, M.L.G.¹¹

¹São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: amanda.cruz21@hotmail.com

²São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: mayracfl@hotmail.com

³São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: luisahdealbuquerque@gmail.com

⁴São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: rapha_teixeira@hotmail.com

⁵São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: medvetrenata@hotmail.com

⁶Diplomate in Veterinary Medicine, Lençóis Paulista, São Paulo, Brazil; email: grandi_vet@yahoo.com.br

⁷Secretary Agriculture of the State of São Paulo, Coordination of Integral Technical Assistance, Office of Development of Bauru, Brazil; email: ferreiradol@gmail.com

⁸São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: lukasgalbertino@hotmail.com

⁹São Paulo State University (Unesp), Institute of Biosciences, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: m.tsunemi@unesp.br

¹⁰São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: sb.chiacchio@unesp.br

¹¹São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: *Corresponding author: maria-lucia.lourenco@unesp.br Endereço postal: Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa, s/n Bairro: Unesp Campus de Botucatu, CEP: 18618-681 - Botucatu, SP; Telefone: (14)3811-6000; Fax: (14)3815-2343

RESUMO

O coração é duplamente innervado pelo sistema nervoso autônomo sendo o predomínio da atividade simpática e parassimpática associado, respectivamente, à elevação e redução da frequência cardíaca (FC), fato ilustrado pela variabilidade da frequência cardíaca (VFC). A gestação induz mudanças significativas nos sistema cardiovascular e hemodinâmico materno. No presente estudo objetivou-se avaliar as alterações nos parâmetros clínicos e ecocardiográficos durante o período gestacional em ovelhas, bem como os índices de VFC, uma vez que nessa fase ocorre uma série de modificações fisiológicas que implicam em elevadas exigências metabólicas maternas, o que pode comprometer a saúde materna na espécie, e conseqüentemente, acarretar em prejuízos econômicos no setor produtivo do agronegócio. Para tanto, foram avaliadas 10 ovelhas da raça Dorper durante a gestação, a partir do segundo mês até 24 horas após o parto, realizando-se exame clínico, ecocardiográfico e eletrocardiográfico com ênfase na VFC. O ecocardiograma foi realizado utilizando-se um aparelho de ultrassom com função doppler e transdutor setorial multifrequencial em modo bidimensional. As mensurações foram realizadas no modo-M (unidimensional). Os índices de VFC foram obtidos pelo sistema Televet 100®. A FC e a pressão arterial elevaram-se após o parto. Durante a gestação, houve aumento da espessura do septo interventricular na diástole (SIVd) a partir do 3º mês, do diâmetro interno do ventrículo esquerdo em sístole e diástole (DIVEs, DIVED) no 2º e 3º mês, sendo que a fração de ejeção (FE) elevou-se com o avançar da gestação. O tamanho do átrio esquerdo (AE) elevou-se a partir do 2º mês. O índice de VFC SDNN foi maior no 5º mês de gestação e após o parto e para os índices RMSSD e PNN50 o mesmo ocorreu. Não houve diferença para os índices de VFC no domínio da frequência no período gestacional. O período gestacional em ovelhas acarreta em alterações nos parâmetros clínicos, na atividade do SNA, sendo que exames pré-natais podem ser realizados em ovelhas. O ecocardiograma evidenciou as alterações hemodinâmicas que ocorrem durante

a gestação. Com o avançar do período gestacional há predomínio da atividade do SNA parassimpático em ovelhas. A avaliação dos parâmetros cardiovasculares e o acompanhamento da ovelha no período gestacional devem ser executados, uma vez que o ecocardiograma e a VFC ilustraram as modificações que ocorrem nesse período e permitem identificação precoce de distúrbios que possam comprometer o sucesso da prenhez de forma não invasiva.

Palavras-chave: ovinos, gestação, hemodinâmica, variabilidade da frequência cardíaca, débito cardíaco

1. Introdução

A gestação induz mudanças significativas nos sistema cardiovascular e hemodinâmico materno, como aumento do débito cardíaco (DC), redução da pressão arterial (PA) e da resistência vascular, havendo vasodilatação vascular sistêmica (Orabona et al., 2018). O sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) é ativado para aumentar o volume circulatório (Ferrazzi et al., 2018), onde o volume sanguíneo eleva-se durante a gestação devido à um aumento no volume plasmático e, em menor grau, à um aumento do volume dos glóbulos vermelhos (Haas et al., 2017).

A função cardiovascular materna e fetal pode ser avaliada a partir de registros de FC e também da VFC, isto é, flutuações à curto e longo prazo da FC (Chaswal et al., 2018). A VFC reflete a influência oscilatória dos ramos simpático e parassimpático do SNA no nodo sinusal, e registros de VFC permitem a análise da resposta do SNA ao estresse. Uma redução na VFC ilustra dominância simpática enquanto que a VFC aumenta com o alto tônus parassimpático (Giese et al., 2018).

Em humanos a VFC fetal eleva-se acentuadamente após a 30ª semana de gestação refletindo a maturação do controle da atividade cardíaca pelo SNA. A redução da VFC é considerada um sinal de comprometimento fetal (Nagel et al., 2010). Em mulheres no

período gestacional uma preocupação constante é o desenvolvimento de cardiopatias da gestação, o que pode acarretar em risco à saúde materna. A avaliação ecocardiográfica permite diagnóstico precoce de tais cardiopatias e pesquisas na espécie ovina empregando o método podem contribuir para redução da taxa de morbidade e mortalidade materna. Também o tempo relativamente curto de gestação e o relativo baixo custo de manutenção dos animais nesse período favorece pesquisas neste âmbito.

As espécies de animais de produção podem gerar exemplares de alto valor zootécnico, principalmente devido ao avanço de novas técnicas de reprodução. A mortalidade neonatal pode ocorrer em decorrência de uma série de fatores como ambiente desfavorável, enfermidades infecciosas e parasitárias, anomalias congênitas, bem como debilidade materna. Neste cenário, a avaliação perinatal (período compreendido em ovinos entre o 60º dia após a concepção até o 28º dia após o nascimento) em animais de produção pode contribuir significativamente para redução de perdas no período gestacional e neonatal (Fragkou et al., 2010).

A espécie ovina tem sido amplamente empregada em diversos protocolos experimentais em Medicina como modelo para o remodelamento na insuficiência cardíaca (Navarro et al., 2010), na eletrocardiografia fetal na obstetrícia, e em protocolos farmacológicos na anestesiologia (Hallowell et al., 2012) devido à sua similitude com a anatomia e fisiologia cardiovascular humana, além da disponibilidade, o tamanho, o baixo custo de manutenção e o curto período de gestação da espécie (Grazul-Bilska et al., 2010).

Os objetivos do presente estudo foram analisar as adaptações hemodinâmicas que ocorrem no período gestacional em animais da espécie ovina por meio de parâmetros ecocardiográficos e da VFC. Ademais, objetivou-se ilustrar a importância da avaliação perinatal na espécie ovina, uma vez que, devido às elevadas exigências metabólicas maternas nesse período, a identificação de distúrbios que possam comprometer o sucesso

da gestação pode reduzir o risco de comprometimento da saúde materna e da viabilidade fetal.

2. Material e Métodos

2.1 Local do Estudo

O presente estudo foi realizado segundo as normas de bem-estar animal, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, sob protocolo CEUA-0174/2016, e autorização do proprietário que consentiu com o plano experimental e procedimentos realizados.

O estudo foi realizado em uma propriedade localizada na cidade de Botucatu-SP, distrito de Rubião Júnior, latitude S-22.902107 e longitude W-48.516534, no período de julho de 2017 à dezembro de 2017.

2.2 Animais

Foram avaliadas 10 ovelhas da raça Dorper (*Ovis aries*), durante o período gestacional (152 dias, $\pm$ 5 meses). Dados maternos referentes à peso, idade, número de partos e número de descendentes foram registrados. As ovelhas foram selecionadas, submetidas ao exame clínico sendo a média de idade das fêmeas de quatro anos ($4,4 \pm 1,3$; idade mínima dois anos, idade máxima sete anos). Os animais que apresentaram anormalidades no exame clínico ou no escore corporal foram excluídos.

As ovelhas eram mantidas em sistema de semiconfinamento, recebendo ração duas vezes ao dia, mistura mineral e água à vontade, sendo a composição da mistura concentrada de 65% de milho moído, 10% de farelo de trigo, 20% de farelo de soja e 5% de NC (núcleo) para ovinos. A composição básica do NC consistiu em: cálcio (mínimo) 120,0 g/kg; cálcio (máximo) 220 g/kg; fósforo (mínimo) 18,00 g/kg; sódio (mínimo) 78,00 g/kg; magnésio (mínimo) 7700,00 mg/kg; potássio (mínimo) 10,00 g/kg; ferro

(mínimo) 250,00 mg/kg; zinco (mínimo) 1875,00 mg/kg; manganês (mínimo) 650,00 mg/kg; iodo (mínimo) 30 mg/kg; selênio (mínimo) 8,00 mg/kg; cobalto (mínimo) 20,00 mg/kg; monesina 600,00 mg/kg.

Os parâmetros clínicos compilados foram: FC (batimentos por minuto - bpm), frequência respiratória (FR) (movimentos por minuto - mpm), temperatura retal (°C), tempo de preenchimento capilar (TPC), coloração de mucosas, pressão arterial sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) pelo método oscilométrico PetMap® (Blood Pressure Measurement Device. Ramsey Medical, Inc. Patent No. D531,313 S), validado na espécie de acordo com Ulian et al. (2016).

2.3 Mensuração da pressão arterial sistêmica

A aferição da PA foi realizada no membro torácico esquerdo, não ultrapassando as linhas pontilhadas indicadas no próprio manguito e para a exatidão da leitura a escolha adequada do manguito foi feita de acordo com o tamanho do membro do animal (40% do diâmetro do membro). O método detecta o pulso arterial por meio de oscilações e também registra valores de FC. As aferições da PA maternas foram realizadas também duas horas e 24 horas após o parto, sendo realizadas três mensurações e obtida a média das mensurações.

2.4 Ecocardiograma

O exame ecocardiográfico foi obtido com a utilização de um aparelho de ultrassom (modelo M-turbo Sonosite), com função doppler e transdutor setorial multifrequencial de 2 – 8 MHz, em Modo 2D. Foram mensuradas, pela janela paraesternal direita, ao corte transversal, em diástole: espessura do septo interventricular (SIVd), diâmetro interno do ventrículo esquerdo (DIVED) e espessura da parede livre do ventrículo esquerdo (PLVED). Em sístole, foram mensuradas a espessura do septo interventricular (SIVs), diâmetro interno do ventrículo esquerdo (DIVEs) e espessura da parede livre do

ventrículo esquerdo (PLVEs). Foram obtidas as médias de três mensurações para os parâmetros avaliados sendo o exame realizado sempre pelo mesmo operador (ASCA).

Foram compilados também o diâmetro do átrio esquerdo (AE) durante a sístole ventricular e da aorta (Ao) na diástole, relação átrio esquerdo/aorta (AE/Ao), a fração de encurtamento do ventrículo esquerdo (FEVE), fração de ejeção (FE) e velocidade do fluxo pulmonar (veloc. pulm.) e gradiente de pressão entre o ventrículo direito e artéria pulmonar (grd. pres. pulm.). Para o cálculo da FEVE (%) foi utilizada a seguinte fórmula: $(DIVEd - DIVEs / DIVEd) \times 100$.

2.5 Obtenção e análise da VFC materna

Os registros do eletrocardiograma (ECG) materno foram realizados com a utilização do sistema Televet 100 (Kruuse®, versão 4.1.3, Marslev, Dinamarca) como descrito por Nagel et al. (2011) o qual detecta e registra o ECG via Bluetooth. Este dispositivo utiliza um filtro de ECG que permite visualizar e analisar a atividade cardíaca materna e fetal, ambos combinados e separadamente (Nagel et al., 2012). O filtro extrai e amplifica o sinal de ECG fetal do sinal de ECG abdominal da mãe. O sinal materno representa um registro modificado de ECG convencional, e o sinal fetal depende da posição fetal no útero, portanto não é um registro padronizado, uma vez que há modificações vetoriais porém o padrão de ondas eletrocardiográficas é mantido (Quevedo et al., 2019).

Para a fixação dos eletrodos nas ovelhas foram utilizados eletrodos adesivos a base de hidrogel, de acordo com o seguinte posicionamento: o eletrodo verde foi acoplado três centímetros do esterno, os eletrodos amarelo e preto foram fixados 20 e 30 cm abaixo da cernelha no lado esquerdo do tórax e o eletrodo vermelho foi posicionado semelhante ao eletrodo amarelo sobre o lado direito do tórax (Ille et al., 2014) (figura 1). Os dados foram gravados durante oito minutos e transferidos para um computador via bluetooth.

Para a análise da VFC, foi utilizado um Software Kubios (Biomedical Signal Analysis Group, Departamento de Física Aplicada da Universidade de Kuopio, Finlândia). Previamente à alocação dos dados no software Kubios, foi realizada a correção manual dos mesmos por meio de dados transpostos ao programa Excel. A correção manual foi realizada devido à possibilidade de artefatos que possam comprometer a análise, como referido por Jonckheer-Sheehy et al. (2012).

A FC mínima, média, máxima e parâmetros da VFC foram obtidos a partir de todos os registros da ovelha. A partir dos intervalos RR registrados, os índices de VFC SDNN (desvio padrão dos intervalos RR) e RMSSD (raiz quadrada da média das diferenças sucessivas entre intervalos RR adjacentes) foram calculados (Tarvainen et al., 2014). Também o índice no domínio do tempo PNN50% (porcentagem das diferenças sucessivas entre os intervalos RR que são > 50 milissegundos) foi registrado.

No domínio da frequência, a análise espectral foi realizada por meio do algoritmo Fast Fourier Transform (FFT) sendo compilados os seguintes índices: componente de alta frequência (high frequency - HF) com variação de 0,15 a 0,4 Hz e componente de baixa frequência (low frequency - LF), com variação entre 0,04 e 0,15 Hz, sendo expressos em unidades normalizadas (n.u.).

2.6 Análise Estatística

Os resultados estão ilustrados com a média, desvio padrão, valores mínimos e máximos. Para a análise dos parâmetros o teste de normalidade empregado foi Kolmogorov-Smirnov; para a comparação entre os momentos propostos o teste utilizado foi de Friedmann. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$. Também empregamos o teste de Friedmann para verificar se houve diferença para os parâmetros nos meses gestacionais entre si especificamente.

3. Resultados

A média de idade das ovelhas foi quatro anos ($4,4 \pm 1,3$; idade mínima 2 anos; idade máxima 7 anos) e dos pesos de 70 kg. A média de partos das fêmeas utilizadas no projeto foi de três partos por animal e a média de descendentes das mães foi quatro descendentes por fêmea.

3.1 *Parâmetros clínicos maternos*

A tabela um ilustra os parâmetros clínicos maternos durante a gestação e 24 horas após o parto. Observou-se aumento da FC, FR no último mês de gestação havendo diferença significativa nos períodos gestacionais.

Houve diferença significativa quanto à FC obtida pelo método oscilométrico nos momentos distintos, e maiores valores ocorreram a partir do quarto mês de gestação sendo no período de 24 horas após o parto o maior registro. A pressão diastólica obtida pelo mesmo método diferiu entre os momentos, sendo elevada 24 horas após o parto. Houve diferença quanto à pressão arterial média, que foi inferior no período gestacional e elevou-se duas horas e 24 horas após o parto. A pressão sistólica também diferiu significativamente nos momentos distintos, sendo que no 2º mês de gestação a mesma apresentou-se elevada. Posteriormente, nos meses sucessivos, houve redução da PAS e elevação subsequente duas horas e 24 horas após o parto.

3.2 *Parâmetros ecocardiográficos maternos*

Na tabela dois estão ilustrados os parâmetros ecocardiográficos maternos obtidos durante o período gestacional. Observou-se aumento da espessura do SIVs, SIVd a partir do 3º mês de gestação, da PLVEs no 2º e 5º mês gestacional, havendo diferença significativa para esses parâmetros entre os momentos analisados. Houve diferença significativa entre os momentos para o tamanho do AE ocorrendo aumento do 2º mês de gestação até o 4º mês, redução no 5º mês em relação aos meses anteriores e redução no

período após o parto em relação ao período gestacional como um todo, e aumento da relação AE/Ao durante o período gestacional, porém sem diferença significativa entre os momentos.

O DIVEd e DIVEs diferiram significativamente entre os momentos elevando-se no segundo e terceiro mês de gestação. Quanto à PLVEd não houve diferença entre os momentos. A FE também diferiu significativamente elevando-se conforme a gestação progrediu e decaindo no período pós-parto. Não houve diferença significativa quanto à FEVE. As diferenças entre os parâmetros ecocardiográficos e períodos avaliados estão representadas na tabela dois de acordo com as letras sobrescritas.

A figura 3 ilustra os parâmetros ecocardiográficos maternos que apresentaram diferença significativa nos períodos avaliados.

3.3 Índices de VFC maternos

Na tabela três estão ilustrados os índices de VFC maternos no período gestacional e após o parto. De acordo com os resultados obtidos houve diferença significativa entre os momentos avaliados para a duração do intervalo RR, onde no 5º mês houve maior duração do intervalo em relação aos períodos gestacionais, e após o parto houve redução em relação ao último mês de gestação. Os menores tempos de duração ocorreram no 2º mês gestacional e no 4º mês gestacional.

A FC média obtida na avaliação da VFC diferiu significativamente entre os momentos sendo que no 3º e 5º mês de gestação houve redução. Após o parto a FC média elevou-se novamente, porém, não ultrapassou os valores registrados no 2º e 4º mês de gestação. A FC mínima diferiu significativamente entre os momentos sendo os maiores registros obtidos no 2º e 4º mês de gestação. No 5º mês decai novamente e após o parto eleva-se sutilmente. A FC máxima também diferiu significativamente entre os momentos decaindo no 5º mês e após o parto.

O índice de VFC no domínio do tempo SDNN também diferiu significativamente entre os momentos onde o mesmo elevou-se no 5º mês de gestação e após o parto, sendo que para o índice RMSSD e PNN50 (ambos representando a atividade parassimpática) o mesmo ocorreu. Os índices LF e HF normalizados (n.u.) não diferiram quanto aos momentos, bem como a relação LF/HF.

Na análise dos momentos gestacionais específicos entre si houve diferença significativa para FC mínima no terceiro e quinto mês de gestação e no mesmo período para a FC máxima, FC média segundo mês e 24 horas pós-parto e intervalo RR no mesmo período referido, SDNN entre segundo e quarto mês, RMSSD entre segundo e terceiro mês e segundo e quarto mês, PNN50 entre terceiro e quinto mês.

4. Discussão

4.1 Parâmetros clínicos

Em nosso estudo a FC obtida pelo exame clínico materno e pelo método oscilométrico foram elevadas no último mês gestacional. Segundo Prestes e Landim-Alvarenga (2006), as concentrações de progesterona em ovelhas permanecem elevadas até a última semana de gestação, e no final da prenhez a placenta de ovelhas produz cinco vezes mais progesterona que os ovários. No terço final da gestação em ovelhas ocorre uma dilatação dos vasos cotiledonários devido à ação do estrógeno, que permite a duplicação da quantidade de sangue que atinge a placenta. Desta forma, os elevados valores de FC em ovelhas podem ser em decorrência da alta concentração de progesterona, uma vez que o hormônio promove vasodilatação (Constantine, 2014), e também devido ao maior fluxo sanguíneo placentário. Também o crescimento fetal é exacerbado nos últimos meses gestacionais o que acarreta em maior compressão de órgãos abdominais, consequentemente maior atividade simpática.

Adicionalmente, nossos resultados para FC se assemelham ao estudo de Nagel et al. (2016) onde os autores observaram que a FC materna aumentou continuamente durante os últimos três meses de gestação em equinos no período gestacional. Essas elevações na FC também podem ser em decorrência do maior retorno venoso na gestação conforme cita Almeida et al. (2017). Apesar da elevação na FC clínica, a média da FC materna não ultrapassou a referência considerada para a espécie (90-115 bpm).

Observamos aumento nos valores da PAM e PAS no último mês gestacional em relação ao quarto mês. O aumento no volume sanguíneo durante a gestação ocorre também devido à ativação do SRAA. A ação da progesterona favorece a natriurese durante a gestação (Ganaie et al., 2009) e redução da resistência vascular periférica (Juengel et al., 2004), enquanto que a aldosterona e o estrógeno promovem retenção de sódio (May et al., 2010).

Acreditamos que os elevados valores de FC, e consequentemente, da PA nos últimos meses gestacionais sejam devido à uma elevação também no metabolismo energético materno, devido ao maior tamanho fetal, à ativação do SRAA durante a gestação e às elevadas concentrações de hormônios tireoideanos nesse período. Segundo Araújo et al. (2014), há elevações nas concentrações dos hormônios tireoideanos em ovelhas gestantes, sendo que esse aumento está relacionado ao metabolismo energético. Em animais não gestantes esses hormônios são considerados indicadores do status metabólico e nutricional do rebanho. Nas ovelhas gestantes a maior atividade tireoidiana em relação às não gestantes ocorre devido aos aumentos tanto nas concentrações de proteínas ligadoras como na secreção de fatores tireotróficos pela placenta e na resposta por parte da hipófise ao hormônio tireoestimulante (TSH) em relação à liberação do hormônio tireotrófico (TRH) pelo hipotálamo.

Os elevados valores pressóricos encontrados em nosso estudo podem ser em decorrência das concentrações de estrógeno bem como da ativação do SRAA. Estudos são necessários para verificar se em ovelhas as modificações que ocorrem na PA podem ser equivalentes ao que ocorre em mulheres que desenvolvem pré-eclâmpsia. A pré-eclâmpsia é uma síndrome que acomete de 3% a 5% das mulheres sendo diagnosticada quando a gestante apresenta hipertensão arterial induzida pela gestação nos últimos meses gestacionais e caracterizando-se por retenção excessiva de sódio e água pelos rins maternos (Mol et al., 2016). Também nestes casos há lesão do endotélio vascular, ocorrendo espasmo arterial principalmente nos rins, cérebro e fígado. A causa da pré-eclâmpsia não é clara. Algumas mulheres são geneticamente predispostas à desenvolver a afecção e associações foram identificadas entre pré-eclâmpsia e variantes genéticas envolvidas na inflamação, estresse oxidativo e o SRAA (Rana et al., 2014).

Também é importante ressaltar que o método de aferição da PA pode ter contribuído para os altos valores pressóricos na espécie bem como o estresse da manipulação dos animais onde os mesmos demonstravam-se relutantes à manipulação e a aferição da PA foi realizada com as ovelhas em estação, refletindo também as limitações do trabalho a campo. Apesar do método oscilométrico ser validado na espécie ovina o mesmo superestima os valores pressóricos. Segundo Pettit e Brown (2011) a mensuração da PA é repleta de erros. A esfigmomanometria de mercúrio continua sendo o padrão ouro, porém o método foi substituído por uma variedade de dispositivos, incluindo máquinas aneróides e automatizadas. Contudo, esses apresentam limitações inerentes à validação onde manômetros aneróides exigem recalibração a cada 6 a 12 meses e sua precisão pode ser deteriorada com o tempo.

Os valores pressóricos maternos e a FC obtida no método oscilométrico após o parto foram elevados em nosso estudo. Próximo do parto o DC aumenta devido ao maior

retorno venoso em relação a cada contração uterina, e após o parto o DC aumenta ainda mais devido à descompressão de órgãos abdominais (Schrack et al., 1993). Também, um aumento no volume sistólico ocorre imediatamente após o parto, possivelmente em detrimento do alívio da oclusão da veia cava, sendo que o DC e a FC retornam aos valores não gestantes em duas semanas após o parto em mulheres (Hunter e Robson, 1992).

Metcalf e Parer (1966) em seu estudo com ovelhas no período gestacional, visando avaliar as alterações hemodinâmicas e compará-las à espécie humana referiram que a gestação em ovelhas acarreta elevação no DC, FC e volume sanguíneo, e uma redução na resistência vascular periférica, assemelhando-se às alterações encontradas em mulheres no período gestacional. Os autores encontraram em seu estudo FC no último mês gestacional de 108 bpm, fato que assemelha nosso estudo ao dos referidos autores onde a média da FC em nossas ovelhas no último mês gestacional foi de 106 bpm. Também referiram que a PAS não diferiu entre os períodos gestacionais (porém os animais foram avaliados sob condições anestésicas gerais), entretanto elevou-se 24 horas após o parto, sendo que maiores valores pressóricos também foram observados 24 horas após o parto em nosso estudo.

Observamos que no último mês de gestação a FR foi superior em relação aos meses anteriores. Segundo Soma-Pillay et al. (2016) há um aumento significativo na demanda de oxigênio e aumento de 40 a 50% na ventilação por minuto durante a gestação normal. Isso se deve à um aumento de 15% na taxa metabólica e a um aumento de 20% no consumo de oxigênio. Porém, acredita-se também, de acordo com Guyton e Hall (2017), que os altos níveis de progesterona na gestação elevem a ventilação minuto ainda mais, já que a progesterona aumenta a sensibilidade do centro respiratório ao dióxido de carbono, o que promove aumento da ventilação-minuto. Simultaneamente, o útero em crescimento pressiona o conteúdo abdominal, promovendo pressão contra o diafragma;

assim a distensão total do diafragma reduz, o que acarreta em aumento da FR para manter a ventilação extra.

4.2 Parâmetros ecocardiográficos

A avaliação ecocardiográfica da estrutura e função cardíaca na gestação requer uma compreensão das alterações fisiológicas normais que ocorrem nesse período, em particular o aumento do volume sanguíneo (pré-carga), redução da resistência vascular sistêmica (pós-carga) e aumento do DC. Além disso, o DC aumenta em 30% a 60% durante o primeiro e o segundo trimestre da gestação, primeiro como resultado do aumento da pré-carga e volume sistólico e posteriormente como resultado do aumento da FC. Há divergências entre os estudos se o DC aumenta ainda mais no terceiro trimestre e essas divergências podem ser explicadas pela variação individual materna (Tsiaras, Poppas, 2010).

Em nosso estudo observamos aumento da espessura do SIVd e SIVs em relação ao período inicial da gestação, evidenciando a presença de hipertrofia septal no período gestacional. Em mulheres a massa ventricular esquerda eleva-se durante a gestação em aproximadamente 5% à 10% e reduz para os níveis basais aos seis meses pós-parto. A hipertrofia ventricular ocorre proporcionalmente ao aumento da carga de trabalho imposta ao coração pela gestação (Simons et al., 2002).

Para o parâmetro ecocardiográfico materno DIVEd houve aumento, principalmente no segundo e terceiro mês de gestação em nosso estudo. Em decorrência da necessidade das modificações hemodinâmicas maternas na gestação, o retorno venoso eleva-se durante esse período devido ao aumento no volume sanguíneo, principalmente no primeiro trimestre da gestação. O aumento no volume sanguíneo e no DC durante o período gestacional resulta em um estado fisiológico de sobrecarga de volume, o que acarreta em dilatação do coração e hipertrofia excêntrica reversível (Eghbali et al., 2005). A medida

serial das dimensões diastólicas finais do AE e do VE pelo modo M enfatiza essas alterações (Metcalf e Parer, 1966). Apesar desse aumento de volume, as pressões dentro dos vasos pulmonares e as pressões venosas centrais não aumentam durante a gestação, possivelmente devido à dilatação e redução da resistência vascular nos leitos sistêmico e pulmonar (Soma-Pilay et al., 2016).

Os diâmetros sistólicos e diastólicos do VE em nosso estudo foram superiores aos encontrados por Acorda e Pajas (2015) em ovelhas prenhes e não-prenhes onde os autores encontraram para DIVED durante a gestação 2,16 cm e não-gestantes 2,18 cm e DIVEs 1,19 cm na gestação e 1,24 cm em ovelhas não gestantes. Essas diferenças enfatizam a necessidade de estudos padronizando ecocardiograma em ovelhas utilizando-se critérios raciais e de peso corporal, uma vez que as ovelhas do nosso estudo apresentaram pesos médios de 70 kg e dos referidos autores pesos médios de 20 kg. Também os autores encontraram diferenças entre os parâmetros ecocardiográficos de acordo com a idade e com a lactação, sendo que durante a gestação em seu estudo houve aumento do diâmetro interno do ventrículo direito, o qual não foi avaliado em nosso estudo.

Em nosso estudo a FE elevou-se com o avançar da gestação decaindo 24 horas após o parto. Estudos dos índices do modo M tem mostrado que a FE e a taxa média de encurtamento circunferencial da fibra aumentam durante a gestação como uma resposta ao maior volume sistólico durante o período gestacional. Esse aumento ocorre durante os dois primeiros trimestres em mulheres e decai durante o terceiro trimestre (Hall et al., 2011).

O diâmetro do AE materno elevou-se no terceiro e quarto mês de gestação, e após o nascimento o diâmetro foi maior em relação ao último mês gestacional. Em um estudo realizado por Rublin et al. (1977) em mulheres durante o período gestacional houve aumento no diâmetro do AE conforme as semanas gestacionais progrediram. Em ovelhas

o mesmo ocorreu, porém, houve redução no quinto mês. Após o nascimento, os maiores valores observados podem ser devido ao maior retorno venoso após descompressão de órgãos abdominais.

De acordo com os parâmetros maternos em nosso estudo, a FC elevou-se durante o período gestacional e observou-se hipertrofia septal. O DIVEs e DIVEd elevaram-se principalmente no início da gestação, porém esses resultados também podem estar sob influência dos hormônios da gestação, onde segundo Fthenakis et al. (2012), o fluxo sanguíneo na ovelha durante o ciclo estral aumenta em 10 mL/minuto devido às altas concentrações de estrógeno e progesterona. Se ocorrer a fertilização esse fluxo reduz e eleva-se novamente a partir de 20 dias de gestação gradativamente, fato que também pode ter contribuído em nosso estudo para o aumento do DIVEs e DIVEd, principalmente no segundo e terceiro mês de gestação.

Locatelli et al. (2011) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar se os parâmetros ecocardiográficos em ovelhas se assemelham aos de humano e concluíram que os parâmetros ecocardiográficos das funções sistólica e diastólica do VE em ovinos adultos jovens podem ser extrapolados para o humano adulto, apoiando assim o uso de modelos ovinos de doença cardíaca humana em pesquisa translacional.

4.3 VFC materna

Para os índices de VFC maternos, quanto ao comportamento da FC, os maiores registros para FC mínima, média e máxima ocorreram no quarto mês de gestação e após o parto, acompanhados pelas variações inversamente proporcionais dos intervalos RR. Carpenter et al. (2015) referem que mudanças ocorrem na VFC durante a gestação e parecem refletir uma redução substancial no tônus parassimpático e um aumento na atividade simpática até o final do primeiro trimestre em mulheres. Contrastando com os achados de Carpenter et al. (2015), Alam et al. (2018), em seu estudo visando avaliar o

comportamento da VFC em mulheres gestantes encontraram maior dominância parassimpática no primeiro trimestre e redução gradativa da atividade vagal no segundo e terceiro trimestre, havendo menor atividade simpática no primeiro trimestre, a qual, inversamente à atividade parassimpática, aumentou gradativamente no segundo e terceiro trimestre da gestação havendo também aumento da FC, sendo que esses resultados foram ilustrados pelos índices de VFC tanto no domínio do tempo quanto da frequência (HF e LF em unidades normalizadas). Acreditamos, de acordo com nosso estudo, que para a detecção da FC em animais de produção a campo também deve-se considerar fatores ambientais que podem acarretar em elevação da FC como o estresse da manipulação.

O aumento do volume sanguíneo pode ter contribuído para elevar o estiramento (distensão) das paredes arteriais e consequentemente promover ativação do barorreflexo, promovendo inibição do centro vasoconstritor bulbar e estimulação do centro parassimpático vagal (Guyton e Hall, 2017).

Observamos aumento dos índices de VFC maternos RMSSD e PNN50 com o avançar da gestação, evidenciando aumento da atividade parassimpática conforme a gestação progrediu. O mesmo ocorreu para o índice SDNN na gestação, onde o mesmo ilustra a atividade de ambos os ramos do SNA. Assim, com o avançar do período gestacional parece haver predomínio da atividade parassimpática. Esse fato pode ser uma tentativa do SNA em manter o equilíbrio das reações que ocorrem nesse período, uma vez que com o avançar da gestação há aumento uterino, consequentemente maior compressão da veia cava e aorta abdominal, promovendo menor retorno venoso e maior ativação simpática (Humphries et al., 2018). Adicionalmente, o maior predomínio parassimpático pode ser devido ao aumento do tamanho uterino conforme a gestação progrediu, o que promove maior elevação da pressão intratorácica e consequentemente maior estímulo vagal.

Também a distensão dos pré-estômagos devido à alimentação das ovelhas somada ao tamanho uterino pode ter exacerbado o estímulo parassimpático.

Acreditamos que uma série de eventos em conjunto durante a gestação como tamanho uterino, ação hormonal, barorreflexo contribuem para as modificações que ocorrem na atividade do SNA nesse período, sendo esses mecanismos complexos e ainda pouco elucidados, havendo necessidade ainda de pesquisas neste cenário. Stone et al. (2017) encontraram uma associação significativa da posição materna com a frequência cardíaca fetal (FCF) onde os índices de VFC SDNN e RMSSD foram reduzidos nas posições semi-inclinada e supina, concluindo que no final da gestação saudável a posição materna afeta a FCF e a VFC. Os autores acreditam que estes efeitos são devido à adaptações fetais à posições que podem produzir um leve estresse hipóxico. Stacey et al. (2011) refere que a posição de sono materna supina é associada à maior risco de morte fetal.

Fatores individuais devem ser considerados para análise da VFC em animais de produção, bem como quando se executa a aquisição de dados a campo. A VFC é um método que pode ser empregado para avaliação do SNA em animais da espécie ovina, porém para interpretação dos índices registrados no presente estudo deve-se considerar que os mesmos refletem a VFC de animais sob condições de estresse, onde além das adaptações da gestação também há a influência do manejo dos animais, ilustrando que para se obter parâmetros de VFC visando empregá-los como referência é necessário considerar sob quais condições se preconiza obter essas referências levando em consideração a VFC e estresse a campo, VFC e nutrição, VFC e afecções, por exemplo.

Trenk et al. (2015) avaliaram a FC e a VFC em animais da espécie bovina durante o período gestacional e observaram que os índices SDNN e RMSSD não apresentaram alterações significativas nas últimas 14 semanas de gestação, porém SDNN foi maior em vacas quando comparado com as novilhas, sugerindo maior tônus simpato-vagal nas

vacas e que a idade tem influência na atividade autonômica. Quevedo et al. (2019), em seu estudo visando avaliar a VFC materna e fetal em vacas holandesas referiram que no último mês de gestação houve diferença significativa para o índice SDNN materno, o qual reduziu, enquanto que o índice RMSSD reduziu, porém sem diferença significativa. A idade dos animais em nosso estudo também podem ter contribuído para os resultados da VFC assim como ilustrado por Trenk et al. (2015), que encontraram diferenças para o índice SDNN entre vacas e novilhas.

Não houve diferença para os índices de VFC no domínio da frequência, porém tal fato pode ser atribuído ao tamanho relativamente pequeno da amostra em nosso estudo. O índice HF corresponde à modulação respiratória e é um indicador da atuação do nervo vago sobre o coração; o LF é decorrente da ação conjunta dos componentes parassimpático e simpático sobre o coração, com predominância simpática (Borrel et al., 2007; Brown et al., 1993; Evrengül et al., 2005).

Como o componente HF da VFC é centrado em torno da FR, a respiração deve ser considerada na análise da VFC. Isso ocorre porque a FR varia entre indivíduos e modifica-se de acordo com diferentes condições fisiológicas, à exemplificar, o exercício (Tarvainen et al., 2009; Laitio et al., 2007). Assim, a FR em ovelhas também deve ser um fator considerado para interpretação do índice HF, uma vez que, em nosso estudo esses animais demonstraram valores elevados de FR. Ainda, um maior fluxo sanguíneo ocorre durante a gestação para o sistema respiratório (Constantine, 2014; Jensen et al., 2008), e a evaporação pela respiração é uma via importante de perda de calor em ovelhas expostas à altas temperaturas (Metcalfe e Parer, 1966), fato que também acreditamos que interferiu para os nossos resultados da FR e do índice HF.

Chaswal et al. (2018) demonstraram em seu estudo com mulheres no período gestacional visando avaliar o comportamento da VFC, hiperatividade simpática e

desequilíbrio simpato-vagal nas pacientes pré-eclâmplicas em comparação com controles normotensas gestantes e não gestantes. O decréscimo parassimpático foi evidente a partir de valores significativamente reduzidos do índice RMSSD e HF (n.u.) no grupo pré-eclâmptico. O aumento do índice LF (n.u.) demonstrou influência simpática elevada, enquanto a maior razão LF/HF indicou desequilíbrio simpático-vagal, atribuído à dominância simpática e redução do tônus vagal nas mulheres com pré-eclâmpsia, evidenciando que a VFC também é um índice que pode ilustrar afecções que possam ser desenvolvidas com o avançar do período gestacional e comprometer a saúde fetal e materna.

Em nosso estudo, assim como já demonstrado em outros estudos, evidenciamos as alterações nos parâmetros cardiovasculares em ovinos durante a gestação e enfatizamos a necessidade de acompanhamento da fêmea gestante nesse período, uma vez que uma série de modificações hemodinâmicas ocorrem. Também, estudos extensos de parâmetros cardiovasculares e da VFC em ovinos são realizados pois o coração ovino é semelhante ao humano em amplos aspectos, incluindo dimensões das câmaras, anatomia coronariana e magnitude de parâmetros hemodinâmicos, como PA, FC e DC. Além disso, as inervações autonômicas do coração em ovelhas também são semelhantes às do humano (Levy, 1990; Booth et al., 2007).

A criação de um ambiente extra-uterino fisiológico para apoiar o crescimento fetal contínuo e o desenvolvimento de órgãos sem conexão com uma placenta biológica tem o potencial de melhorar a sobrevivência e reduzir a morbidade da prematuridade (Partridge et al., 2017). Parâmetros ecocardiográficos que caracterizam o estado clínico do sistema cardiovascular fetal existem atualmente. As técnicas de ultrassom Doppler são utilizadas para avaliar o fluxo cerebrovascular, placentário e fetal e a resistência vascular através de cálculos de índices de pulsatilidade para a artéria umbilical e artéria cerebral média,

respectivamente (Acharya et al., 2004). Um estudo realizado por Ozawa et al. (2019) visando empregar um ambiente extrauterino (placenta artificial) para o desenvolvimento neonatal revelou que o mesmo aproximou-se do estado natural placentário e promoveu um estado hemodinâmico estável e sustentável por três semanas para o desenvolvimento fetal. Diante do exposto, enfatizamos a importância de descrição de parâmetros ecocardiográficos em ovelhas na gestação bem como a importância de se ilustrar o comportamento hemodinâmico das modificações que ocorrem nesse período, uma vez que, os estudos acerca de desenvolvimento de placentas artificiais tem se destacado nas pesquisas atuais.

Não só ao que se refere ao âmbito de pesquisas translacionais, o acompanhamento da fêmea gestante em ovinos empregando-se a avaliação cardiovascular assegura uma gestação saudável, evitando danos que possam ocorrer à saúde materna, e conseqüentemente fetal, o que poderia impactar em prejuízos econômicos, principalmente quando se emprega o método de IATF e também em perdas de descendentes que poderiam contribuir para a lucratividade do produtor.

Algumas limitações são atribuídas ao presente estudo. Os valores elevados de PA podem ser em decorrência da aferição com os animais em estação, onde devido ao custo dos animais não era permitido colocá-los em decúbito. A contenção manual das ovelhas exacerbou o estresse das mesmas, uma vez que os animais não adaptavam-se à manipulação, o que pode ter influenciado no resultados da PA e dos índices de VFC. O tamanho pequeno da amostra pode ter contribuído para resultados não significativos, bem como a raça pode ter influenciado nos parâmetros ecocardiográficos, uma vez que a raça Dorper é considerada de corte.

5. Conclusões

A avaliação ecocardiográfica evidenciou as alterações hemodinâmicas que ocorrem em ovelhas durante a gestação. No mesmo período em ovelhas, há predomínio da atividade parassimpática e acredita-se que esse fato seja uma tentativa de manter o equilíbrio simpatovagal frente às adaptações que ocorrem no organismo materno para acomodar o feto, fato ilustrado pela VFC, que demonstrou também ser uma técnica exequível em animais de produção e que pode contribuir para reduzir as perdas econômicas no setor de produção, onde uma gestação saudável pode gerar descendentes de alto desempenho e, conseqüentemente, alto valor zootécnico, promovendo impactos positivos no setor do agronegócio.

Conflitos de Interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo fornecimento da bolsa, à FAPESP (Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo) pelo auxílio pesquisa, à Clínica Médica de Grandes Animais da FMVZ-UNESP, Botucatu, e à cabanha Estrela do Vale, Sítio Vale Verde, Botucatu-SP, Brasil.

Financiamento

Este trabalho foi apoiado pela FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), número 2017/15121-9.

Referências

Acharya, G., Erkinaro, T., Makikallio, K., Lappalainen, T., Rasanen, J., 2004. Relationships among Doppler-derived umbilical artery absolute velocities, cardiac

function, and placental volume blood flow and resistance in fetal sheep. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 286, H1266–1272.

Acorda, J.A., Pajas, A.M.G.A. 2015. M-mode Echocardiographic Values in Male and Female Philippine Sheep (*Ovis aries*) (Artiodactyla: Bovidae) by Age and Status of Lactation and Pregnancy. *Philipp. J. Vet. Med.* 52, 11–20.

Alan, T., Choudhary, A.K., Kumaran, S. 2018. Maternal heart rate variability during different trimesters of pregnancy. *Natl. J. Physiol. Pharm.* 8, 1475-1480.

Almeida, V.T., Uscategui, R.A.R., Silva, P.D.A., Avante, M. L., Simões, A.P.R., Vicenti, W.R.R., 2017. Hemodynamic gestacional adaptation in bitches. *Cienc. Rural.* 47, 1–6.

Araújo, C.A.C., Nikolaus, J.P., Morgado, A.A., Monteiro, B.M., Rodrigues, F.A.M.L., Vechiato, T.A.F., Soares, P.C., Sucupira, M.C.A. 2014. Perfil energético e hormonal de ovelhas Santa Inês do terço médio da gestação ao pós-parto. *Pesq. Vet. Bras.* 34,1251-1257.

Booth, L.C., Bennet, L., Barrett, C.J., Guild, S.J., Wassink, G., Gunn, A.J., Malpas, S.C., 2007. Cardiac-related rhythms in sympathetic nerve activity in preterm fetal sheep. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 293, 185–190.

Borrell, E.V., Langbein, J., Després, G., Hansen, S., Leterrier, C., Forde, J.M., Forde, R. M., Minero, M., Mohr, E., Prunier, A., Valance, D., Veissier, I., 2007. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals- A review. *Physiol. Behav.* 92, 293–316.

Brown, T.E., Beightol, L.A., Koh, J., Eckberg, D.L., 1993. Important influence of respiration on human R-R interval power spectra is largely ignored. *J. Appl. Physiol.* 75, 2310–2317.

Carpenter, R.E., da Silva, L.A., Emery, S.J., Uzun, O., Rassi, D., Lexwis, M.J. 2015. Changes in heart rate variability and QT variability during the first trimester of pregnancy. *Physiol. Meas.* 36, 531–545.

Chaswal, M., Kapoor, R., Batra, A., Verma, S., Yadav, S., 2018. Heart Rate Variability and Cardiovascular Reflex Tests for Assessment of Autonomic Functions in Preeclampsia. *Int. J. Hypertens.* 2018, 1–7.

Constantine, M.M., 2014. Physiologic and pharmacokinetic changes in pregnancy. *Front Pharmacol.* 5, 1–5.

Eghbali, M., Deva, R., Alioua, A., Minosyan, T.Y., Ruan, H., Wang, Y., Toro, L., Stefani, E. 2005. Molecular and functional signature of heart hypertrophy during pregnancy. *Circ. Res.* 96, 1208–1216.

Evrengül, H., Tanriverdi, H., Dursunoglu, D., Kaftan, A., Kuru, O., Unlu, U., Kilic, M., 2005. Time and frequency domain analyses of heart rate variability in patients with epilepsy. *J. Epilepsy. Res.* 63, 131–139.

Ferrazi, E., Stampalijja, T., Monasta, L., Martino, D., Vonck, S., Gyselaers, W., 2018. Maternal hemodynamics: a method to classify hypertensive disorders of pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 218, 1–11.

Fragkou, I.A., Mavrogianni, V.S., Fthenakis, G.C., 2010. Diagnostic investigation of cases of deaths of newborn lambs. *Small Ruminant Res.* v.92, 41–44.

Fthenakis, G.C., Arsenos, G., Brozos, C., Fragkou, I.A., Giadinis, N.D., Giannenas, I., Mavrogianni, V.S., Papadopoulos, E., Valasi, I., 2012. Health management of ewes during pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.* 130, 198–212.

Fujitani, S., Baldisseri, M.R., 2005. Hemodynamic assessment in a pregnant and peripartum patient. *Crit. Care Med.* 33, 354–361.

Ganaie, B.A., Khan, M.Z., Islam, R., Makhdoomi, D.M., Qureshi, S., Wani, G.M., 2009. Evaluation of different techniques for pregnancy diagnosis in sheep. *Small Rumin. Res.* 85, 135–141.

Giese, H., Dilly, M., Gundelach, Y., Hoffmann, G., Schmicke, M., 2018. Influence of transrectal palpation training on cortisol levels and heart rate variability in cows. *Theriogenology*. 119, 238–244.

Grazul-Bilska, A.T., Borowicz, P.P., Johnson, M.L., Minten, M.A., Bilski, J.J., Wroblewski, R., Redmer, D.A., Reynolds, L.P., 2010. Placental development during early pregnancy in sheep: vascular growth and expression of angiogenic factors in maternal placenta. *Reproduction*. 140, 165–174.

Guyton, A.C., Hall, J.E. *Tratado de Fisiologia médica*. 13 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.2019-220; p.1063, 2017.

Haas, S., Ghossein-doha, C., Van Kuijk, S.M.J., Van Drongelen, J., Spaanderman, M. E. A., 2017. Physiological adaptation of maternal plasma volume during pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 49, 177–187.

Hall, M.E., George, E.M., Granger, J.P., 2011. The Heart During Pregnancy. *Ver. Esp. Cardiol.* 64, 1045–1050.

Hallowell, G.D., Potter, T.J., Bowen, I.M., 2012. Reliability of quantitative echocardiography in adult sheep and goats. *BMC Vet. Res.* 8, 1–11.

Humphries, A., Mirjalili, S.A., Tarr, G.P., Thompson, J.M.D., 2018. The effect of supine positioning on maternal hemodynamics during late pregnancy. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 1–8.

Hunter, S., Robson, S.C., 1992. Adaptation the maternal heart in pregnancy. *Br. Heart J.* 68, 540–543.

Ille, N., Erber, R., Aurich, C., Aurich, J. 2014. Comparison of heart rate and heart rate variability obtained by heart rate monitors and simultaneously recorded electrocardiogram signals in nonexercising horses. *J. Vet. Behav.* 9, 341–346.

Jensen, D., Webb, K.A., Davies, G.A.L., O'Donnell, D.E., 2008. Mechanical ventilatory constraints during incremental cycle exercise in human pregnancy: implications for respiratory sensation. *J. Physiol.* 19, 4735–4750.

Jonckheer-Sheehy, V.S.M., Vinke, C.M., Ortolani, A. 2012. Validation of a Polar® human heart rate monitor for measuring heart rate and heart rate variability in adult dogs under stationary conditions. *J. Vet. Behav.* 7, 205–212.

Juengel, J. L., Hudson. N.L., Whiting, L., McNatty, K.P., 2004. Effects of Immunization against Bone Morphogenetic Protein 15 and Growth Differentiation Factor 9 on Ovulation Rate, Fertilization, and Pregnancy in Ewes. *Biol. Reprod.* 70, 557–561.

Laitio, T., Jalonen, J., Kuusela, T., Scheinin, H., 2007. The role of heartrate variability in risk stratification for adverse postoperativecardiac events. *Anesth. Analg.* 105, 1548–1560.

Levy, M.N., 1990. Autonomic interactions in cardiac control. *Ann. N Y Acad. Sci.* 601, 209–21.

Locatelli, P., Olea, F.D., Lorenzi, A., Salmo, F., Janavel, G.L.V., Hnatiuk, A.P., Guevara, E., Crottogini, A.J., 2011. Reference values for echocardiographic parameters and

indexes of left ventricular function in healthy, young adult sheep used in translational research: comparison with standardized values in humans. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 4, 258–264.

May, L.E., Glaros, A., Yeh, H.W., Clapp III, J.F., Gustafson, K.M., 2010. Aerobic exercise during pregnancy influences fetal cardiac autonomic control of heart rate and heart rate variability. *Early Hum. Dev.* 86, 213–217.

Metcalf, J., Parer, J.T., 1966. Cardiovascular changes during pregnancy in ewes. *Am. J. Physiol.* 210, 821–825.

Mol, B.W.J., Roberts, C.T., Thangaratinam, S., Magee, L.A., de Groot, C.J.M., Hofmeyr, G.J. 2016. Pre-eclampsia. *Lancet.* 387, 999-1011.

Nagel, C., Aurich, J., Aurich, C., 2010. Determination of heart rate and heart rate variability in the equine fetus by fetomaternal electrocardiography. *Theriogenology.* 73 973–983.

Nagel, C., Aurich, J., Palm, F., Aurich, C., 2011. Heart rate and heart rate variability in pregnant warmblood and Shetland mares as well as their fetuses. *Anim. Reprod. Scie.* 127, 183–187.

Nagel, C., Erber, R., Bergmaier, C., Wulf, M., Aurich, J., Möstl, E., Aurich, C., 2012. Cortisol and progestin release, heart rate and heart rate variability in the pregnant and postpartum mare, fetus and newborn foal. *Theriogenology.* 78, 759–767.

Nagel, C., Aurich, J., Trenk, L., Ille, N., Drillich, M., Pohl, W., Aurich, C., 2016a. Stress response and cardiac activity of term and preterm calves in the perinatal period. *Theriogenology.* 86, 1498–1505.

Nagel, C., Trenk, C., Aurich, J., Wulf, M., Aurich, C., 2016b. Changes in blood pressure, heart rate and blood profile in mares during the last 3 months of gestation and the peripartum period. *Theriogenology*. 86, 1–9.

Navarro, F.B., Costa, F.D.A., Mulinari, L.A., Pimentel, G.K., Roderjan, J.G., Vieira, E.D., Noronha, L.E., Miyague, N.I., 2010. Avaliação do comportamento biológico de homoenxertos valvares pulmonares descelularizados: estudo experimental em ovinos. *Ver. Bras. Cir. Cardiovasc.* 25, 377–387.

Orabona, R., Prefumo, F., Zanardini, C., Magri, R., Loardi, C., Cappa, V., Calza, S., Frusca, T., Acharya, G., 2018. Maternal functional hemodynamics in uncomplicated twin pregnancies: a longitudinal study using impedance cardiography. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 00, 1–22.

Ozawa, K., Davey, M.G., Tian, Z., Hornick, M.A., Mejaddam, A.Y., McGovern, P.E., Flake, A.W., Rychik, J., 2019. Fetal echocardiographic assessment of the cardiovascular impact of prolonged support in the EXTrauterine Environment for Neonatal Development (EXTEND) system. *Ultrasound. Obstet. Gynecol.* doi: 10.1002/uog.20295.

Partridge, E.A., Davey, M.G., Hornick, M.A., McGovern, P.E., Mejaddam, A. Y., Vrecenak, J.D., Mesas-burgos, C., Olive, A., Caskey, R.C., Weiland, T.R., Han, J., Schupper, A.J., Connelly, J.T., Dysart, K.C., Rychik, J., Hedrick, H.L., Peranteau, W.H., Flake, A.W., 2017. An extra-uterine system to physiologically support the extreme premature lamb. *Nat Commun.* 8, 1–15.

Pettit, F., Brown, M.A. The management of pre-eclampsia: what we think we know. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 160, 6-12.

Prestes, N.C., Landim-Alvarenga, F.C. *Obstetrícia Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, p.70-73.

- Quevedo, D.A.C., Lourenço, M.L.G., Bolaños, C.D., Alfonso, A., Ulian, C.M.V., Chiacchio, S.B. 2019. Maternal, fetal and neonatal heart rate and heart rate variability in Holstein cattle. *Pesq. Vet. Bras.* 39, 286–291.
- Rana, S., Karumanchi, S.A., Lindheimer, M.D. 2014. Angiogenic factors in diagnosis, management, and research in preeclampsia. *Hypertension.* 63, 198–202.
- Rublin, S., Damani, P.M., Pinto, E.R., 1977. Cardiac size and performance during pregnancy estimated with echocardiography. *Am. J. Cardiol.* 40, 534–540.
- Schrack, F.N., Surface, R.A., Pritchard, J.Y., Dailey, R.A., Townsend, E.C., Inskip, E.K., 1993. Ovarian Structures during the Estrous Cycle and Early Pregnancy in Ewes. *Biol. Reprod.* 49, 1133–1140.
- Simmons, L.A., Gillin, A.G., Jeremy, R.W. 2002. Structural and functional changes in left ventricle during normotensive and preeclamptic pregnancy. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 283, H1627–H1633.
- Soma-Pillay, P.S., Piercy, C.N., Tolppanen, H.E.L.I., Mebazaa, A., 2016. Physiological changes in pregnancy. *Cardiovasc. J. Afr.* 27, 89–94.
- Stone, P.R., Burgess, W., McIntyre, J.P.R., Gunn, A.J., Lear, C.A., Bennet, L., Mitchell, E.A., Thompson, J.M.D. 2017. Effect of maternal position on fetal behavioural state and heart rate variability in healthy late gestation pregnancy. *J. Physiol.* 595, 1213–1221.
- Tarvainen, M.P., Ranta-aho, P.O., Karjalainen, P.A., 2022. An Advanced Detrending Method with Application to HRV Analysis. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 49, 172–175.

Tarvainen, M.P., Niskanen, J.P., Lipponen, J.A., Ranta-aho, P.O., Karjalainen, P.A., 2014. Kubios HRV – Heart rate variability analysis software. *Comput. Methods Programs Biomed.* 113, 210–220.

Thayer, J.F., Åhs, F., Fredrikson, M., Sollers III, J.J., Wager, D.T., 2012. A meta-analysis of heart rate variability and neuroimaging studies: implications for heart rate variability as a marker of stress and health. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 36, 747–756.

Trenk, L., Kuhl, J., Aurich, J., Aurich, C., Nagel, C., 2015. Heart rate and heart rate variability in pregnant dairy cows and their fetuses determined by fetomaternal electrocardiography. *Theriogenology*. 84, 1405–1410.

Yadegari, M., 2014. Normal echocardiographic findings in Lori-Bakhtiari sheep. *Vet. Med. Sci.* 6, 45–48.

Ulian, C.M.V., Carvajal, A.P.L., Velasquez, D.R.B., Neto, F.J.T., Lourenço, M.L.G., Chiacchio, S.B., 2016. Acurácia dos métodos oscilométrico (petmap®) e doppler para aferição indireta da pressão arterial em cordeiros. *Cienc. Anim. Bras.* 17, 593–600.

Tabela 1 – Parâmetros clínicos maternos (média, desvio-padrão, mínimo e máximo) obtidos no período gestacional e após o nascimento em ovelhas da raça Dorper.

Parâmetros clínicos	2 meses gestação	3 meses gestação	4 meses gestação	5 meses gestação	Horas após nascimento	Valor p
FC (bpm)	80±12,75 ^{abc} (64;112)	90±23,05 ^{ab} (44;140)	84±20,48 ^{abc} (58;124)	106±27,47 ^c (48;152)	-	*0,007
FR (mpm)	47±19,82 ^a (28;112)	50±22,56 ^a (24;100)	42±12,72 ^a (20;60)	83±34,23 ^b (44;140)	-	*0,000
T (°C)	38,8±0,25 ^{ac} (38,5; 39,3)	38,5±0,42 ^b (38,3;38,8)	38,9±0,45 ^{abc} (38,3;39,8)	39,3±0,26 ^{abc} (39,1;39,9)	-	*0,000
Mucosas	1	1	1	1	-	
TPC	2	2	2	2	-	
PA (mmHg)						
Diastólica	112±43,20 ^{abc} (60;225)	108±31,87 ^{ab} (60;170)	120±37,06 ^{abc} (60;185)	119±27,30 ^{abc} (65;170)	2:127±27,14 (75;165) ^c 24:146±35,34 (100;225) ^{abc}	0,001
Média	143±35,64 ^a (95;230)	130±28,80 ^{cd} (80;190)	138±34,99 ^{abd} (75;205)	142±24,75 ^{abcd} (85;180)	2:144±27,72 (85; 175) ^{abcd} 24:154±31,79 (90;230) ^d	*0,004
Sistólica	195±38,26 ^{ab} (130;270)	173±31,66 ^{abc} (130;230)	165±44,20 ^c (90;250)	171±25,89 ^{abc} (125;220)	2:165±32,43 (100;205) ^{abc} 24:184±35,28 (105;240) ^a	*0,003
FC Pet Map	98±23,64 ^a (70;155)	88±24,04 ^a (40;135)	114±27,64 ^b (60;170)	126±24,22 ^c (75;170)	2:128±24,78 (75; 175) ^d 24:131±28,45 (80;205) ^e	*0,000

Mucosas: 1= normocoradas, 2= hipocoradas, 3= congestas TPC: 1= > 2 segundos, 2= < 2 segundos. Teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov; comparação entre momentos teste de Friedmann. *significância: p <0,05; ^{ab}letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença significativa entre os períodos avaliados.

Tabela 2 – Parâmetros ecocardiográficos (média, desvio-padrão, mínimo e máximo) maternos obtidos durante o período gestacional e 24 horas após o parto em ovelhas da raça Dorper.

Parâmetros ecocardiográficos	2 meses gestação	3 meses gestação	4 meses gestação	5 meses gestação	24 hrs. pós-parto	p
SIVd (cm)	0,91±0,21 (0,57;1,51) ^a	1,04±0,17 (0,76;1,39) ^{abc}	1,0±0,17 (0,78;1,39) ^{bc}	1,01±0,17 (0,69;1,33) ^{bc}	1,08±0,24 (0,76;1,63) ^{bc}	*0,045
DIVEd (cm)	4,86±0,52 (3,90;5,89) ^a	4,53±0,67 (3,54;6,05) ^b	4,24±0,55 (3,02;5,06) ^{abc}	4,28±0,69 (2,65;5,55) ^{abc}	4,26±0,68 (3,11;5,20) ^{ac}	*0,009
PLVEd (cm)	1,10±0,31(0,76;2,02)	1,04±0,24(0,61;1,58)	1,05±0,15(0,63;1,26)	1,21±0,26(0,88;1,89)	1,14±0,21(0,79; 1,51)	0,178
SIVs (cm)	1,46±0,21 (1,17;1,95) ^a	1,53±0,24 (1,19; 2,08) ^{ab}	1,51±0,18 (1,29;1,83) ^a	1,55±0,24 (1,20; 2,21) ^{ac}	1,57±0,19 (1,20;1,88) ^{ad}	0,048
DIVEs (cm)	3,15±0,42 (2,39;3,91) ^a	2,89±0,5 (1,86;3,97) ^b	2,65±0,47 (1,95;3,59) ^{bc}	2,56±0,49 (1,58;3,41) ^c	2,64±0,55 (1,67;3,34) ^b	*0,004
PLVEs cm	1,76±0,27 (1,23;2,15) ^{ab}	1,54±0,29 (1,05;2,39) ^a	1,46±0,23 (0,88;1,75) ^{ab}	1,62±0,20 (1,32;2) ^b	1,56±0,27 (1,20;2,08) ^{ab}	*0,006
FE (%)	64±5,7 (55;76) ^a	66±6,6 (53;81) ^b	68±8,5 (53;83) ^{bc}	70±7,33 (59;83) ^{ac}	68±6,6 (61;82) ^{bc}	*0,04
FEVE (%)	35±4,33(29;45)	36±5,18(27;49)	38±6,85(28;51)	40±6,07(31;52)	38±5,4(33;50)	0,062
AE (cm)	4,08±0,42 (3,56;4,96) ^a	4,15±0,25 (3,58;4,50) ^{bc}	4,20±0,36 (3,33;4,84) ^{bc}	3,83±0,46 (3,04;4,73) ^{abc}	3,90±0,43(3,32;4,89) ^{abc}	*0,008
Ao (cm)	2,36±0,34(1,87;2,96)	2,25±0,29(1,76;2,78)	2,31±0,37(1,44;2,98)	2,26±0,28(1,84;2,94)	2,33±0,31 (1,84;2,92)	0,415
AE/Ao	1,74±0,19(1,45;2,19)	1,86±0,21(1,51; 2,24)	1,85±0,28(1,42;2,51)	1,73±0,24(1,38;2,40)	1,67±0,14 (1,50;2,04)	0,065
Veloc. Pulm. (cm/s)	79,99±11,40(65,70;106,20)	79,28±11,64(61;111,30)	79,41±12,51(64,60;105)	79,93±11,05(61;103,60)	79,69±11,7(61;104,10)	0,973
Grd. pres.(mmHg)	2,64±0,77(1,73;4,51)	2,58±0,78(1,49;4,96)	2,62± 0,85(1,67;4,41)	2,64±0,75(1,49;4,31)	2,66±0,73(149;4,33)	0,942

Teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov; comparação entre momentos teste de Friedmann; diástole (d) e sístole (s): septo interventricular (SIV), diâmetro interno do ventrículo esquerdo (DIVE), parede livre do ventrículo esquerdo (PLVE), fração de ejeção (FE), fração de encurtamento do ventrículo esquerdo (FEVE), átrio esquerdo (AE), aorta (Ao), relação AE/Ao, velocidade fluxo sanguíneo na valva pulmonar (veloc. pulm.), gradiente de pressão entre ventrículo direito e artéria pulmonar (grd. pres.). *significância: p<0,05; ^{ab} letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença significativa entre os períodos avaliados.

Tabela 3 – Índices de VFC maternos (média, desvio-padrão, mínimo e máximo) durante o período gestacional e 24 horas após o parto em ovelhas da raça Dorper.

VFC Materna	2 meses gestação	3 meses gestação	4 meses gestação	5 meses gestação	24 hrs. pós- parto	p
FC Min.	86±23 ^{ab} (43;122)	41±3,37 ^a (39;52)	75±9,27 ^{ab} (63;99)	44±4,45 ^b (39;53)	46±5,22 ^{ab} (42;61)	*0,000
FC Méd.	114±23,27 ^a (66;148)	81±9,48 ^{ab} (65;103)	114±12,1 ^{ab} (93;134)	81±15 ^{ab} (65;132)	94±15 ^b (72;117)	*0,000
FC Máx.	158±21,78 ^{ab} (96;186)	141±17,2 ^a (99;150)	183±8,58 ^{ab} (165;197)	136±12,48 ^b (101;149)	138±16,44 ^{ab} (98;150)	*0,000
RR (ms)	554±136,68 ^a (406;914)	749±90,67 ^{ab} (580;925)	529±57,2 ^{ab} (446;643)	757±113,46 ^{ab} (455;926)	653±107 ^b (515;835)	*0,000
SDNN (ms)	9,95±4,60 ^a (4,70;18,40)	12,51±7,45 ^{ab} (6,70;32,60)	17,20±14,84 ^b (4,20;55,10)	36,83±24,32 ^{ab} (9,60;96,70)	45,01±22,37 ^{ab} (11,50;93,20)	*0,000
RMSSD (ms)	6,42±3,59 ^a (2,80;15,20)	10,49±5,40 ^b (5,70; 24,40)	11,58±9,84 ^{bc} (2,70;33,60)	29,23±23,55 ^{abc} (7,60;91,60)	36,74±28,47 ^{abc} (12,30; 127,40)	*0,000
PNN50 %	0,29±0,77 ^{ab} (0;2,41)	1,04±1,5 ^a (0;5,36)	2,46±5,27 ^{ab} (0;18,75)	7,84±13,4 ^b (0;50)	6,24±4,83 ^{ab} (0,80;16,57)	*0,000
LF (n.u.)	75,91±14,98 (46,18;94,79)	75,25±8,56 (58,03;86,80)	73,69±9,19 (60,33;91,98)	74,58±17,89 (25,34;95,46)	76,07±14,21 (48,16;93,71)	0,653
HF (n.u.)	24,05±14,98 (5,14;53,81)	24,96±9,15 (13,17;45,85)	25,33±8,90 (7,98;39,56)	25,28±17,86 (4,53;74,61)	23,88±14,18 (6,25;51,83)	0,653
LF/HF	5,58±5,22 (0,86;18,43)	3,51±1,59 (1,18;6,59)	3,58±2,63 (1,53;11,53)	5,17±5,03 (0,34;21,07)	5,70±4,14 (1,39;14,99)	0,421

Teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov; *significância: p <0,05; comparação entre momentos teste de Friedmann; n.u. = normalizados. FC: frequência cardíaca; Min: mínima; Med: média; Máx: máxima; RR: intervalos RR; SDNN: desvio-padrão da média de todos os intervalos RR; RMSSD: raiz quadrada das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado; PNN50: percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 ms de seu adjacente; HF: high frequency; LF: low frequency; ^{ab}letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença significativa entre os períodos avaliados.

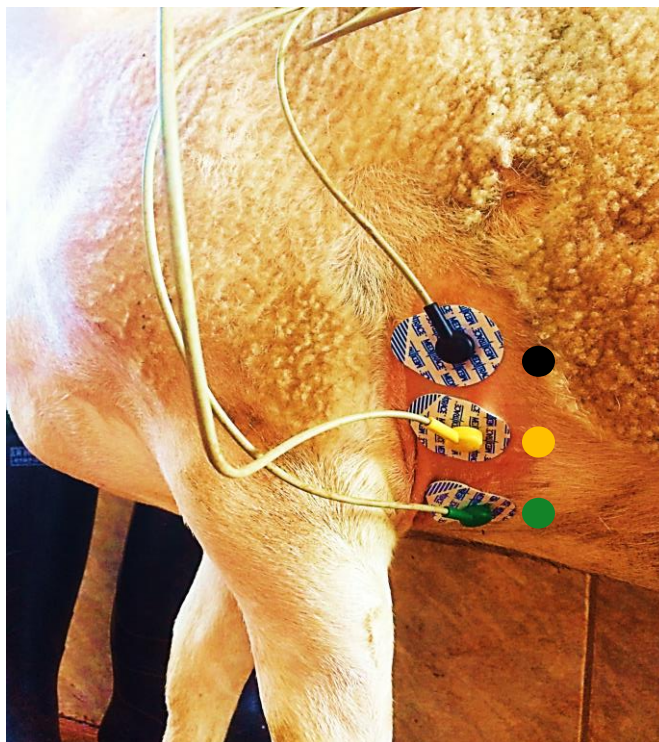


Figura 1. Posicionamento eletrodos (lado esquerdo tórax) para aquisição de dados de VFC em ovelhas da raça Dorper.

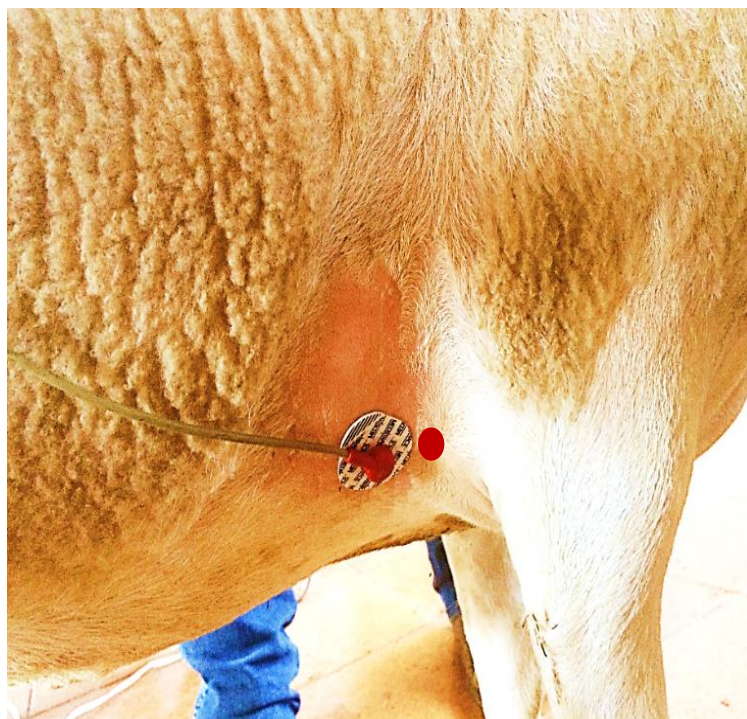


Figura 2. Posicionamento eletrodos (lado direito tórax) para aquisição de dados de VFC em ovelhas da raça Dorper.

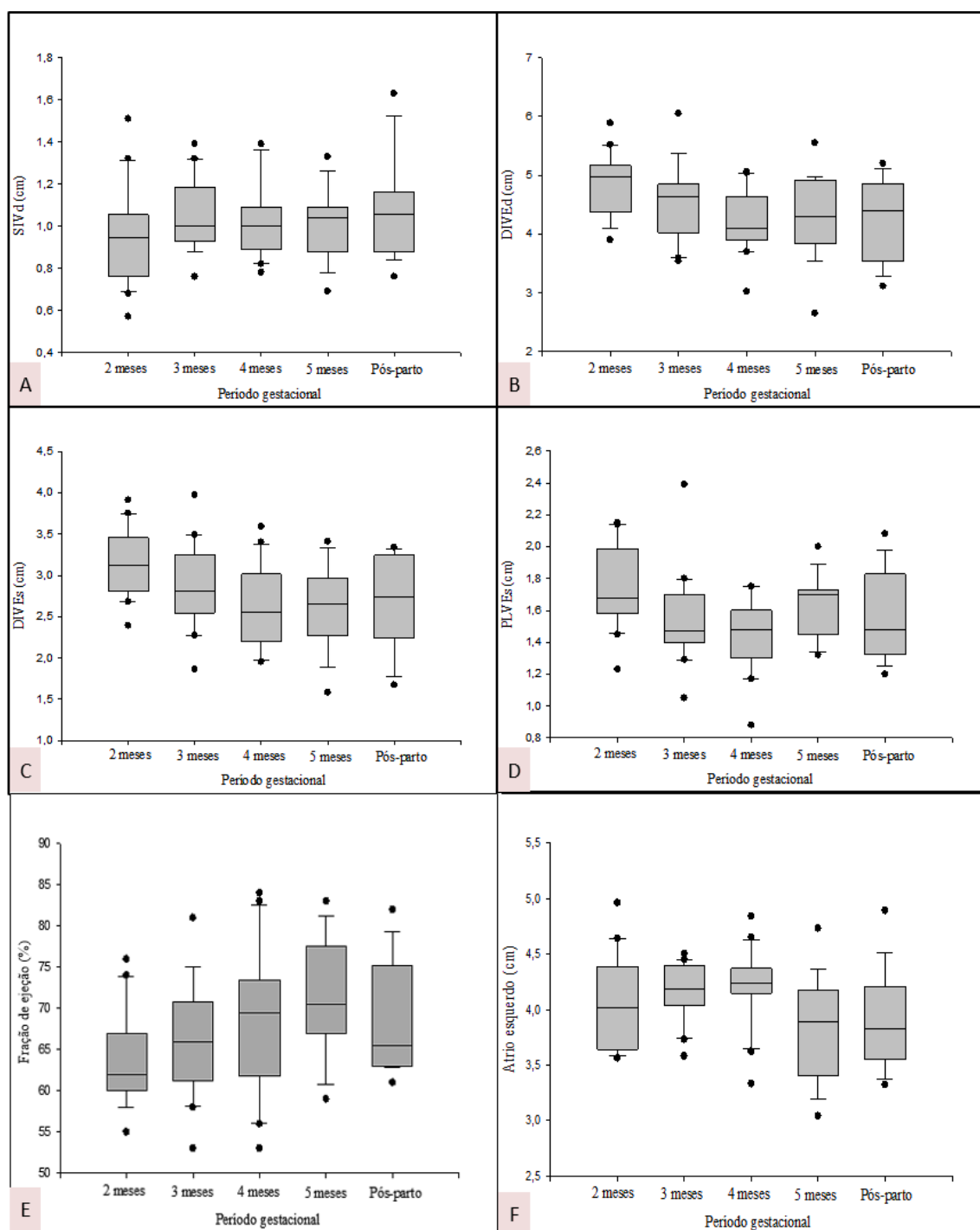


Figura 3. Parâmetros ecocardiográficos maternos em ovelhas da raça Dorper que apresentaram diferença significativa nos períodos avaliados: A-SIV (d), B-DIVE (d), C-DIVE (s), D-PLVE (s), E-Fração de ejeção, F-Tamanho do átrio esquerdo.

Seção 3

Artigo para ser enviado à revista The Journal of Veterinary Medical Science

Artigo completo

Medicina Interna

Variabilidade da Frequência Cardíaca em ovinos da raça Dorper no período fetal e neonatal até 120 dias de idade: emprego da técnica a campo

Cruz-Aleixo, A.S.¹; Lima, M.C.F.²; Albuquerque, A.L.H.³; Teixeira, R.T.⁴; Paula, R.A.⁵; Grandi, M.C.⁶; Ferreira, D.O.L.⁷; Tsunemi, M.H.⁸; Chiacchio, S.B.⁹; Lourenço, M.L.G.¹⁰

¹São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: amanda.cruz21@hotmail.com

²São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: mayracfl@hotmail.com

³São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: luisahdealbuquerque@gmail.com

⁴São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: rapha_teixeira@hotmail.com

⁵São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: medvetrenata@hotmail.com

⁶Diplomate in Veterinary Medicine, Lençóis Paulista, São Paulo, Brazil; email: grandi_vet@yahoo.com.br

⁷Secretary Agriculture of the State of São Paulo, Coordination of Integral Technical Assistance, Office of Development of Bauru, Brazil; email: ferreiradol@gmail.com

⁸São Paulo State University (Unesp), Institute of Biosciences, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: m.tsunemi@unesp.br

⁹São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: sb.chiacchio@unesp.br

¹⁰São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo, Brazil; email: *Corresponding author: maria-lucia.lourenco@unesp.br

RESUMO

A avaliação das funções autonômicas cardíacas pode ser feita pela variabilidade da frequência cardíaca (VFC), um teste quantitativo, não invasivo e seguro. A VFC é definida como as flutuações no ritmo ou frequência cardíaca, sendo uma ferramenta útil na avaliação do sistema nervoso autônomo (SNA) pelos seus componentes simpático e parassimpático, seu equilíbrio e reflexo no sistema de controle cardiorrespiratório. A eletrocardiografia fetal fornece informações sobre o bem-estar fetal, onde em fetos humanos mudanças ocorrem no comportamento da frequência cardíaca fetal (FCF) durante o segundo e terceiro trimestre da gestação havendo um aumento na atividade parassimpática. Assim, considerando a importância da avaliação da viabilidade fetal, os objetivos do presente estudo foram avaliar o comportamento da FCF, VFC fetal em ovinos da raça Dorper e a atividade do SNA na vida fetal, bem como em cordeiros após o nascimento, já que a espécie ovina é empregada em estudos experimentais e a atividade do SNA representa um índice prognóstico; assim o diagnóstico de modificações no equilíbrio simpátovagal pode ser um índice precoce de viabilidade e bem estar fetal e condições fisiológicas em cordeiros. As análises foram realizadas utilizando-se 10 ovelhas da raça Dorper, no período gestacional, e 10 cordeiros após o nascimento até 120 dias de idade. Houve redução da FCF no quinto mês de gestação, porém sem diferença significativa nos períodos avaliados, e o mesmo ocorreu para os índices de VFC fetal. A FC em cordeiros reduziu gradualmente e a partir de 21 dias de idade decresceu. Os índices SDNN e RMSSD diferiram durante os períodos etários sendo elevados aos 60 dias de idade. Em fetos ovinos, a análise da viabilidade fetal é relevante para evitar perdas durante a gestação e para a saúde materna. Em cordeiros a atividade parassimpática parece predominar a partir de 21 dias de idade, sendo que a VFC pode ser empregada como um

fator para avaliação fetal e do desenvolvimento em cordeiros, uma vez que modificações em seu comportamento podem representar comprometimento da higidez fetal e neonatal.

Palavras-chave: feto, ovelha, sistema nervoso autônomo, frequência cardíaca, gestação.

INTRODUÇÃO

A monitorização da FCF tem sido utilizada desde a década de 1970 e tornou-se um componente padrão da avaliação do bem-estar fetal [17]. Um dos objetivos do monitoramento da FCF é evitar asfixia e acidose fetal e suas sequelas à longo prazo no desenvolvimento neurológico [41]. Em fetos humanos mudanças ocorrem no comportamento da FCF durante o segundo e terceiro trimestre da gestação onde a FCF reduz a partir da nona semana de gestação de 175 batimentos por minuto (bpm) à 140 bpm no final da gestação normal [42]. Supõe-se que essa redução seja mediada por um aumento na atividade parassimpática que anula a influência do tônus simpático. As alterações na função vagal podem, além disso, levar à um aumento da VFC [3].

No período gestacional inúmeras modificações fisiológicas ocorrem as quais facilitam o suprimento materno de oxigênio e nutrientes para o feto em crescimento, mantendo a capacidade de reserva suficiente para a mãe [8]. Durante o trabalho de parto, o feto pode ser exposto à hipóxia aguda durante contrações uterinas ou insultos intraparto [13] e possui mecanismos de defesa compensatórios cardiovasculares que idealmente previnem a encefalopatia hipóxico-isquêmica. A redução ou ausência da variabilidade da FCF com desacelerações é o preditor mais consistente de acidemia neonatal e desfecho desfavorável [8,9]. O grau de desaceleração da FCF geralmente é proporcional à força da contração uterina associada. Acredita-se que as desacelerações iniciais resultem da compressão da cabeça do feto, alterando o fluxo sanguíneo cerebral e levando à redução da FCF pelo reflexo vagal [25].

A utilização de modelos ovinos fetais instrumentados no final da gestação forneceu informações para a fisiologia fetal [32] que são limitadas no feto humano e permitiu uma análise detalhada da função cardiovascular fetal durante períodos prolongados [33]. Utilizando-os como modelos experimentais, estudos demonstraram que a hipóxia aguda ativa ambos os ramos do SNA que controlam a FCF, com maior dominância vagal [27] e que a ativação do sistema nervoso simpático (SNS) é a chave para fornecer suporte rápido para aumentar a resistência vascular periférica fetal e manter a pressão arterial, apesar da redução da FCF. Também o avanço da idade gestacional e a terapia antenatal com glicocorticóides interferem na magnitude e no padrão da resposta da FCF à hipóxia e na compensação endócrina e metabólica fetal, fatores que contribuem para as alterações na variabilidade da FCF [35].

Em humanos recém-nascidos prematuros o SNA é imaturo e não está apto para as demandas de transição cardiorrespiratória ao nascimento [43]. Cerca de 25% dos prematuros desenvolvem uma lesão cerebral que pode acometer ainda mais a maturação e função do SNA [19]. A função do SNA pode ser mensurada de forma não invasiva a partir do comportamento da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória e pressão arterial. A VFC ou a flutuação no tempo entre batimentos cardíacos sucessivos (intervalos RR) fornece uma medida da função simpática e parassimpática e, portanto, maturação do SNA. À medida que o SNA amadurece, deve haver aumento da função parassimpática [44].

O sistema cardiovascular é amplamente controlado pelo SNA sendo o sistema nervoso simpático responsável pelo aumento da FC e da pressão arterial (PA), e o SNP responsável pela redução da FC e da PA [29, 30]. O controle autonômico do sistema cardiovascular tem desenvolvimento durante a vida fetal, porém os ramos parassimpático e simpático se desenvolvem de formas distintas [39]. O ramo simpático parece se

desenvolver rapidamente durante o primeiro trimestre em humanos, e lentamente após esse período, enquanto o controle parassimpático ou vagal se torna dominante tardiamente no desenvolvimento fetal, entre 25 e 30 semanas. O controle dos parâmetros cardiovasculares pelo SNA envolve uma interação complexa entre os dois ramos e o resultado dessa interação reflete o equilíbrio simpato-vagal [6].

Desta forma, considerando a importância da avaliação da viabilidade fetal e neonatal os objetivos do presente estudo foram avaliar o comportamento da FCF, da VFC fetal em fetos ovinos da raça Dorper, a atividade do SNA na vida fetal, bem como em cordeiros após o nascimento, já que a espécie é empregada em estudos experimentais e a atividade do SNA representa um índice prognóstico; assim o diagnóstico de modificações no equilíbrio simpato-vagal pode ser um índice precoce de viabilidade e bem-estar fetal e condições fisiológicas em cordeiros, o que pode contribuir para pesquisas translacionais e reduzir a taxa de mortalidade neonatal.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do estudo

O presente estudo foi realizado segundo as normas de bem-estar animal, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, sob protocolo CEUA-0174/2016, e autorizado pelo proprietário que consentiu com o plano experimental e procedimentos realizados.

O estudo foi realizado em uma propriedade localizada na cidade de Botucatu-SP, distrito de Rubião Júnior, latitude S-22.902107 e longitude W-48.516534, no período de julho de 2017 à abril de 2018.

Animais

Foram avaliadas 10 ovelhas da raça Dorper (*Ovis aries*), durante o período gestacional (152 dias, $\pm$ 5 meses). As ovelhas foram selecionadas e submetidas ao exame clínico geral, sendo que foram excluídas as ovelhas que apresentaram qualquer anormalidade no exame clínico e/ou no escore corporal. Os protocolos de vacinação e vermifugação eram realizados pelo médico veterinário responsável pelo local.

As ovelhas eram mantidas em sistema de semiconfinamento, recebendo ração duas vezes ao dia, mistura mineral e água à vontade, sendo a composição da mistura concentrada de 65% de milho moído, 10% de farelo de trigo, 20% de farelo de soja e 5% de NC (núcleo) para ovinos. A composição básica do NC consistiu em: cálcio (mínimo) 120,0 g/kg; cálcio (máximo) 220 g/kg; fósforo (mínimo) 18,00 g/kg; sódio (mínimo) 78,00 g/kg; magnésio (mínimo) 7700,00 mg/kg; potássio (mínimo) 10,00 g/kg; ferro (mínimo) 250,00 mg/kg; zinco (mínimo) 1875,00 mg/kg; manganês (mínimo) 650,00 mg/kg; iodo (mínimo) 30 mg/kg; selênio (mínimo) 8,00 mg/kg; cobalto (mínimo) 20,00 mg/kg; monesina 600,00 mg/kg.

VFC fetal

Os registros do ECG fetal foram compilados com a utilização do sistema Televet 100 (Kruuse®, versão 4.1.3, Marslev, Dinamarca) [22]. Este dispositivo utiliza um filtro de ECG que permite visualizar e analisar o comportamento da FC materna e fetal, ambos combinados e separadamente, visando amplificar o sinal fetal para avaliação.

Os registros de ECG fetal foram obtidos pelo acoplamento de eletrodos nas ovelhas prenhes. Para a fixação dos eletrodos nas ovelhas, afim de se obter a VFC fetal, foram utilizados eletrodos adesivos a base de hidrogel, conforme cita Nagel *et al.* [21] sendo o seguinte posicionamento: o eletrodo verde foi acoplado no lado esquerdo do pescoço; eletrodo amarelo foi posicionado na região do flanco esquerdo, aproximadamente à altura

da anca; eletrodo preto (neutro) na região lombar esquerda das ovelhas (figura 1), e o eletrodo vermelho foi posicionado no lado direito do abdômen, na altura do joelho, conforme ilustra a figura 2.



Figura 1. Posicionamento eletrodos (lado esquerdo) para registro de VFC fetal em ovelhas da raça Dorper.



Figura 2. Posicionamento eletrodos (lado direito) para registro de VFC fetal em ovelhas da raça Dorper.

VFC neonatal

Para as gravações do ECG neonatal utilizou-se o mesmo sistema, sendo o posicionamento dos eletrodos modificados para: eletrodo verde acoplado três centímetros do esterno, os eletrodos amarelo e preto foram fixados 20 e 30 cm abaixo da cernelha no lado esquerdo do tórax e o eletrodo vermelho foi posicionado semelhante ao eletrodo amarelo sobre o lado direito do tórax [12] (figura 3). Os dados foram registrados durante oito minutos e transferidos para um computador via bluetooth.

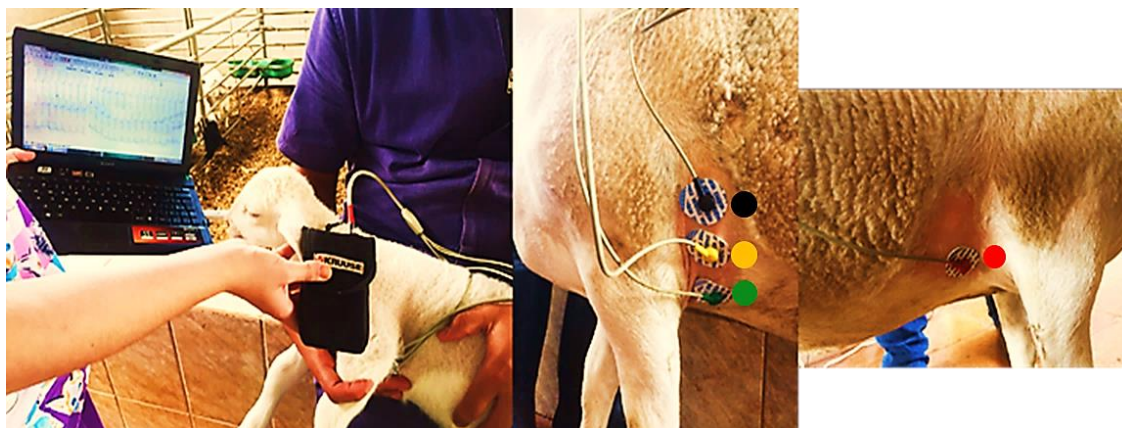


Figura 3. Posicionamento eletrodos recomendado para registro convencional de VFC em cordeiros da raça Dorper.

Análise da VFC

Para a análise da VFC foi utilizado um Software Kubios (Biomedical Signal Analysis Group, Departamento de Física Aplicada da Universidade de Kuopio, Finlândia). Previamente à alocação dos dados no software Kubios, foi realizada a correção manual dos dados por meio de transposição dos mesmos ao programa Excel. A correção manual foi realizada devido à possibilidade de artefatos que possam comprometer a análise, como referido por Jonckheer-Sheehy et al. (2012) [14].

A FC e parâmetros da VFC foram obtidos a partir de todos os registros da ovelha obtendo-se posteriormente os registros fetais. A partir dos intervalos RR registrados, os índices de VFC SDNN (desvio-padrão dos intervalos RR) e RMSSD (raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes, em um intervalo de tempo expresso em milissegundos - ms) [38] foram calculados. Também o índice no domínio do tempo PNN50% (porcentagem das diferenças sucessivas entre os intervalos RR que são > 50 milissegundos) foi registrado.

No domínio da frequência, a análise espectral foi realizada por meio do algoritmo Fast Fourier Transform (FFT) sendo compilados os seguintes índices: componente de alta frequência (high frequency -HF) com variação de 0,15 a 0,4 Hz; componente de baixa

frequência (low frequency -LF), com variação entre 0,04 e 0,15 Hz, sendo expressos em unidades normalizadas (n.u.).

Análise Estatística

Os resultados estão ilustrados com a média, desvio-padrão, valores mínimos e máximos obtidos. Para a análise dos parâmetros o teste de normalidade empregado foi Kolmogorov-Smirnov; para a comparação entre todos os momentos propostos o teste utilizado foi de Friedmann, e posteriormente o mesmo teste foi empregado para comparação entre momentos específicos escolhidos (24 horas após nascimento, 7, 14 e 21 dias de idade). Todas as discussões foram realizadas à nível de 5% de significância.

RESULTADOS

Os índices de VFC fetal foram registrados a partir do segundo mês de gestação, porém foram obtidos sem a interferência de grande quantidade de artefatos somente a partir do quarto mês de gestação e estão representados na tabela um.

Tabela 1 – Índices de VFC fetal (média, desvio-padrão, mínimo, máximo) no quarto e quinto mês de gestação em ovinos da raça Dorper.

VFC fetal	4º mês	5º mês	p
Min.	153±11,20 (136;173)	153±13,49 (136;183)	0,941
FC Méd.	195±12,00 (158;208)	191±16,43 (159;220)	0,404
Máx.	258±22,45 (169;270)	248±23,44 (182;267)	0,184
RR (ms)	308±21,18 (288;379)	315±28,23 (272;376)	0,369
SDNN (ms)	6±4,81 (2,3;23,3)	5,7±2,68 (2,5;12,0)	0,843
RMSSD (ms)	4,26±4,25 (1,2;18,6)	3,71±2,30 (1,6;8,9)	0,643
PNN50 (%)	0,37±1,63 (0;7,14)	0,6±0,25 (0;1)	0,455
LF (n.u.)	59,17±25,27 (13,22;93,15)	48,78±29,71 (1,77;88,42)	0,271
HF (n.u.)	40,68±25,18 (6,81;86,56)	50,97±29,51 (11,57;98,08)	0,273
LF/HF	3,18±3,66 (0,15;13,68)	1,96±2,19 (0,01;7,64)	0,252

Comparação entre momentos teste de Friedmann *significância $p < 0,05$; n.u. = normalizadas. FC: frequência cardíaca; Min: mínima; Med: média; Máx: máxima; RR: intervalos RR; SDNN: desvio-padrão da média de todos os intervalos RR; RMSSD: raiz quadrada das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado; PNN50: percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 ms de seu adjacente; HF: high frequency; LF: low frequency.

A figura 4 ilustra o traçado eletrocardiográfico fetal obtido pelo método Televet 100® no quinto mês de gestação.

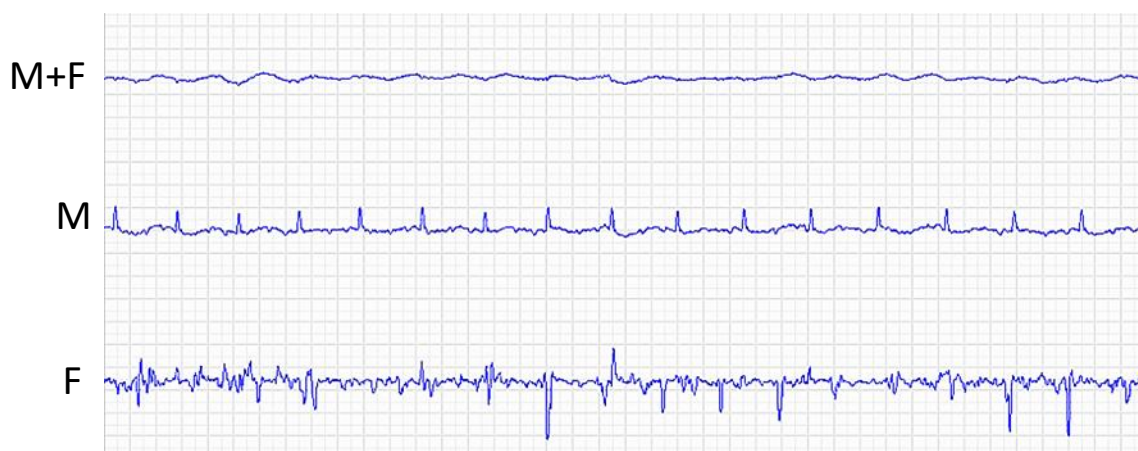


Figura 4. Traçado eletrocardiográfico fetal obtido pelo método Televet 100® no quinto mês de gestação em ovinos da raça Dorper.

Não houve diferença significativa para a FCF e para os índices de VFC fetal em ovinos entre o quarto e quinto mês de gestação, porém observamos que no quinto mês a FCF média e máxima reduziram em relação ao quarto mês. Também o índice PNN50 foi maior nesse período, onde o mesmo ocorreu para o índice HF (n.u.).

A tabela 2 ilustra os índices de VFC em cordeiros a partir de 24 horas de nascimento até 120 dias de idade. Observou-se que a FC reduziu gradualmente conforme os animais se desenvolviam sendo que a partir de 21 dias decresceu em relação aos períodos anteriores. As FC mínima, média e máxima diferiram significativamente entre os momentos, sendo que a partir de 21 dias houve redução das mesmas. Houve também diferença quanto ao intervalo RR, onde a partir de 21 dias as durações elevaram-se.

O índice SDNN diferiu significativamente durante os períodos etários sendo o maior valor obtido aos 60 dias de idade e o mesmo ocorreu para o índice RMSSD. Também houve diferença nos períodos etários quanto aos índices LF (n.u.), que apresentou valores inferiores a partir de 21 dias de idade, e HF (n.u.), que se elevou a partir de 21 dias de idade, bem como para a relação LF/HF.

Posteriormente foi aplicado o teste estatístico de Friedmann para avaliar possíveis diferenças significativas entre momentos específicos entre os índices de VFC 24 horas após o nascimento até 21 dias de idade, período onde observou-se início do declínio da FC. Encontrou-se diferenças extremamente significativas para o intervalo RR 24 horas pós-parto com 14 e 21 dias, 7 e 21 dias, sendo que o mesmo ocorreu nos períodos referidos para a FC mínima, média e máxima. O índice SDNN diferiu significativamente entre os momentos: 24 horas pós-parto e 14 dias, 7 e 21 dias, 14 e 21 dias. Para o índice RMSSD houve diferença significativa entre 24 horas pós-parto com 7 e 21 dias; 7 dias e 14 dias, 14 e 21 dias. Os índices LF e HF em unidades normalizadas, bem como a razão LF/HF diferiram nos períodos de 7 e 21 dias e 14 e 21 dias de vida, conforme demonstrado na tabela 2.

Tabela 2 – VFC em cordeiros da raça Dorper (média, desvio-padrão, mínimo, máximo) a partir de 24 horas de nascimento até 120 dias de idade.

VFC	24 horas	7 dias	14 dias	21 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	p
FC Min.	178±39,43 ^a (120;246)	165±35,70 ^{ab} (110;221)	164±26,93 ^{bc} (136;219)	137±39,77 ^{bc} (82;227)	134±25 (100;197)	130±21,88 (86;173)	140±13,48 (107;157)	131±18,18 (105;158)	*0,000
FC Méd.	199±38,71 ^a (134;255)	199±37,74 ^{ab} (148;247)	179±27,45 ^{bc} (144;230)	159±40,57 ^{bc} (102;253)	149±28,09 (107;222)	162±25,03 (106;198)	154±17,33 (110;175)	149±17,53 (123;175)	*0,000
FC Máx.	239±34,30 ^a (164;270)	245±32,25 ^{ab} (190;270)	213±38,70 ^{bc} (151;270)	205±47,14 ^{bc} (122;261)	171±31 (120;254)	217±27,98 (166;251)	176±22,07 (118;200)	199±38,76 (139;259)	*0,000
RR (ms)	311±62,64 ^a (236;449)	311±61,30 ^{ab} (243;407)	340±50,44 ^{bc} (261;417)	398±98,18 ^c (237;589)	414±70,85 (270;559)	380±71,23 (304;568)	393±53,38 (343;543)	405±48,59 (343;487)	*0,000
SDNN (ms)	1,77±1,39 ^{ac} (0,40;4,10)	3,19±2,90 ^{ab} (0,60;9,30)	1,17±1,75 ^b (0,50;6,70)	3,53±4,15 ^c (0,70; 15,20)	0,69±0,14 (0,60;1,10)	3,83±2,98 (0,90;11,30)	0,71±0,09 (0,60;0,90)	3,14±2,52 (0,90;7,60)	*0,000
RMSSD (ms)	0,66±0,44 ^a (0,20;1,40)	1,38±1,22 ^{bc} (0,30;4)	0,56±0,59 ^a (0,20;2,40)	1,45±1,45 ^c (0,40;5,50)	0,52±0,14 (0,30;0,80)	1,70±1,07 (0,60;3,50)	0,48±0,08 (0,40;0,70)	1,30±0,84 (0,50;3)	*0,000
PNN50 (%)	0±0 (0;0)	0,01±0,04 (0;0,15)	0,01±0,03 (0;0,1)	0±0 (0;0)	0±0 (0;0)	0,03±0,07 (0;0,19)	0±0 (0;0)	0,01±0,04 (0;0,15)	0,474
LF (n.u.)	75,45±8,20 ^{ab} (57,35;90,96)	75,19±16,44 ^a (40,91;95,33)	72,81±9,48 ^a (56,20;83,09)	65,08±15,68 ^b (43,99;92,4)	60,58±16,47 (27,93;77,7)	53,73±17,90 (29,50;79,5)	66,77±6,94 (54,32;76,7)	62,86±11,03 (40,83;77)	*0,008
HF (n.u.)	24,51±8,19 ^{ab} (9,01;42,61)	24,75±16,40 ^a (4,66;58,91)	27,14±9,45 ^a (16,87;43,77)	34,81±15,63 ^b (7,47;55,65)	39,35±16,49 (25,68;49,4)	46,17±17,90 (20,44;70,4)	34,50±9,83 (23,19;58,4)	37,04±10,98 (22,93;58,8)	*0,005
LF/HF	3,65±2,20 ^{ab} (1,35;10,10)	5,12±5,16 ^a (0,69;20,44)	3,10±1,35 ^a (1,28;4,93)	3,07±3,38 ^b (0,79;12,37)	1,93±1,08 (0,39;3,50)	1,59±1,26 (0,42;3,89)	5,49±11,39 (1,21;41,59)	1,90±0,78 (0,69;3,36)	*0,008

Teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov; *significância: $p < 0,05$; comparação entre momentos teste de Friedmann; n.u. = normalizadas. FC: frequência cardíaca; Min: mínima; Méd: média; Máx: máxima; RR: intervalos RR; SDNN: desvio-padrão da média de todos os intervalos RR; RMSSD: raiz quadrada das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado; PNN50: percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 ms de seu adjacente; HF: high frequency; LF: low frequency; ^{ab} letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença extremamente significativa ($p < 0,001$) entre diferentes momentos do período neonatal (24 horas após nascimento até 21 dias de idade).

A figura 5 ilustra o traçado eletrocardiográfico obtido pelo método Televet 100® em cordeiros da raça Dorper 24 horas após o parto e a figura 6 ilustra o traçado eletrocardiográfico obtido pelo método Televet 100® em cordeiros da raça Dorper com 21 dias de idade.

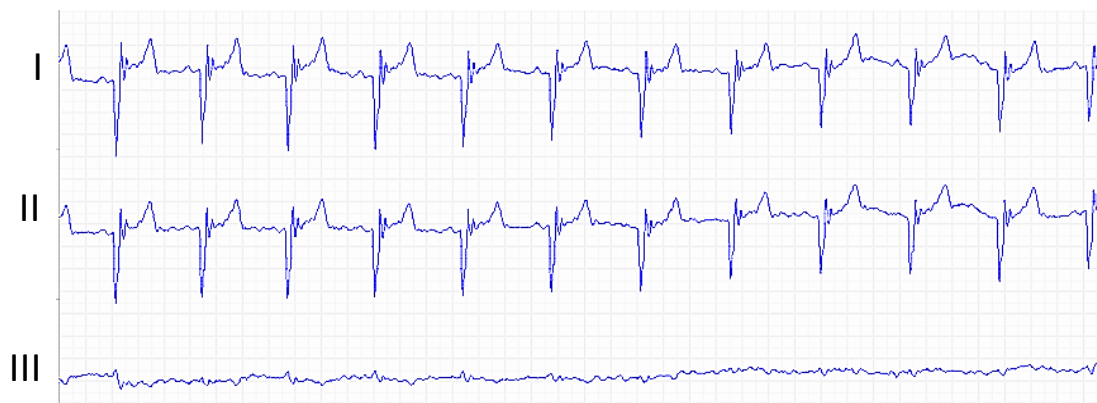


Figura 5. Traçado eletrocardiográfico neonatal obtido pelo método Televet 100® 24 horas após o parto em cordeiros da raça Dorper.

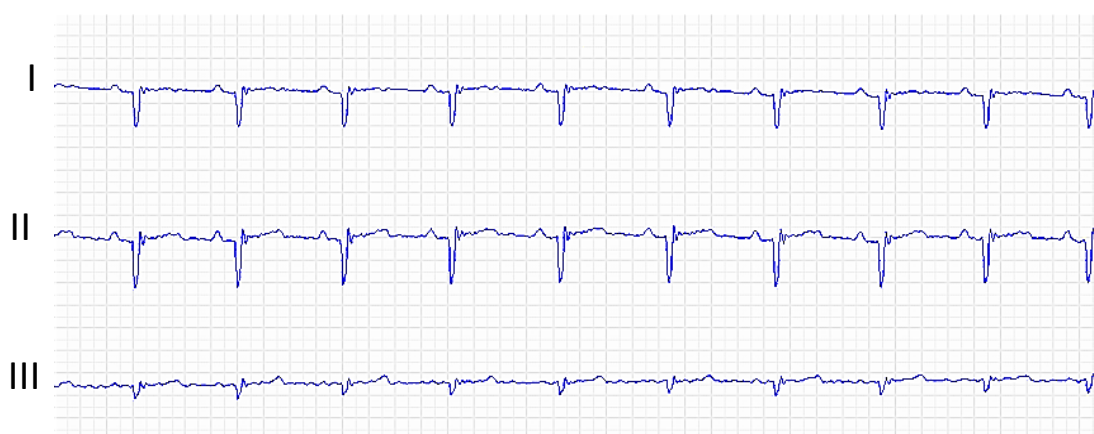


Figura 6. Traçado eletrocardiográfico neonatal obtido pelo método Televet 100® em cordeiros da raça Dorper com 21 dias de idade.

O teste de Friedmann foi também aplicado para comparar os índices de VFC entre o período fetal e neonatal. Para o intervalo RR fetal no quarto mês de gestação houve diferença entre o mesmo com: 30 dias, 90 dias e 120 dias de idade. A FC média no quarto mês diferiu com a FC média aos 30 dias de idade. Para a FC máxima houve diferença entre quarto mês e 14 dias, quarto mês e 30 dias, quarto mês e 90 dias e o mesmo ocorreu para os índices SDNN e RMSSD. A FCF foi inferior no 4º mês de gestação em relação à

FC em cordeiros 24 horas após o parto, 7 e 14 dias de idade, e concordando com o comportamento da FCF os índices de VFC que ilustram a atividade parassimpática PNN50, RMSSD (domínio do tempo) e HF (domínio da frequência) foram elevados nesse período. O mesmo ocorreu para a FCF no quinto mês de gestação. A tabela 3 ilustra as avaliações entre o período fetal no quarto mês de gestação e o período neonatal.

Para o intervalo RR fetal no quinto mês de gestação houve diferença entre o mesmo com: 30, 90 e 120 dias de idade. A FC média e máxima no quinto mês de gestação diferiu com o período de 30 dias de idade. O índice no domínio do tempo SDNN fetal diferiu no quinto mês de gestação com: 14, 30 e 90 dias sendo que o índice RMSSD no período fetal diferiu com a maioria dos momentos avaliados exceto 21, 60 e 120 dias. As comparações entre o período fetal no quinto mês de gestação e o período neonatal estão ilustradas na tabela 4.

As figuras 7, 8 e 9 representam esquematicamente o comportamento da FC mínima, FC média, FC máxima no período fetal e neonatal em cordeiros da raça Dorper, respectivamente, sendo que as figuras 10 e 11 representam esquematicamente os índices de VFC no domínio da frequência LF (n.u.) e HF (n.u.) no período fetal e neonatal em cordeiros da raça Dorper, respectivamente.

Tabela 3. Comparação dos índices de VFC no período fetal (4º mês) e no período neonatal em ovinos da raça Dorper.

VFC	4º mês	24 horas	7 dias	14 dias	21 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias
FC Min.	153±11,20 ^a	178±39,43 ^a	165±35,70 ^a	164±26,93 ^a	137±39,77 ^a	134±25 ^a	130±21,88 ^a	140±13,48 ^a	131±18,18 ^a
FC Méd.	195±12,00 ^a	199±38,71 ^{ac}	199±37,74 ^{ac}	179±27,45 ^{ac}	159±40,57 ^{ac}	149±28,09 ^c	162±25,03 ^{ac}	154±17,33 ^{ac}	149±17,53 ^{ac}
FC Máx.	258±22,45 ^a	239±34,30 ^{abcd}	245;32,25 ^{abcd}	213±38,70 ^{bcd}	205±47,14 ^{ab}	171±31 ^{bcd}	217±27,98 ^{abcd}	176±22,07 ^{bcd}	199±38,76 ^{abcd}
RR (ms)	308±21,18 ^a	311±62,64 ^{abcd}	311±61,30 ^{abcd}	340±50,44 ^{abcd}	398±98,18 ^{abcd}	414±70,85 ^{bcd}	380±71,23 ^{abcd}	393±53,38 ^{bcd}	405±48,59 ^{bcd}
SDNN (ms)	6±4,81 ^a	1,77±1,39 ^{abcd}	3,19±2,90 ^{abcd}	1,17± 1,75 ^{bcd}	3,53±4,15 ^{ab}	0,69±0,14 ^{bcd}	3,83±2,98 ^{abcd}	0,71±0,09 ^{bcd}	3,14±2,52 ^{abcd}
RMSSD (ms)	4,26±4,25 ^a	0,66±0,44 ^{abcd}	1,38±1,22 ^{abcd}	0,56±0,59 ^{bcd}	1,45±1,45 ^{ab}	0,52±0,14 ^{bcd}	1,70±1,07 ^{abcd}	0,48±0,08 ^{bcd}	1,30±0,84 ^{abcd}
PNN50 (%)	0,37±1,63 ^a	0±0 ^a	0,01±0,04 ^a	0,01±0,03 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a	0,03±0,07 ^a	0±0 ^a	0,01±0,04 ^a
LF (n.u.)	59,17±25,27 ^a	75,45±8,20 ^a	75,19±16,44 ^a	72,81±9,48 ^a	65,08±15,68 ^a	60,58±16,47 ^a	53,73±17,90 ^a	66,77±6,94 ^a	62,86± 11,03 ^a
HF (n.u.)	40,68±25,18 ^a	24,51±8,19 ^a	24,75±16,40 ^a	27,14±9,45 ^a	34,81±15,63 ^a	39,35±16,49 ^a	46,17±17,90 ^a	34,50±9,83 ^a	37,04±10,98 ^a
LF/HF	40,68±25,18 ^a	3,65±2,20 ^a	5,12±5,16 ^a	3,10±1,35 ^a	3,07±3,38 ^a	1,93±1,08 ^a	1,59±1,26 ^a	5,49±11,39 ^a	1,90±0,78 ^a

Comparação entre momentos teste de Friedmann; n.u. = normalizadas. FC: frequência cardíaca; Min: mínima; Med: média; Máx: máxima; RR: intervalos RR; SDNN: desvio-padrão da média de todos os intervalos RR; RMSSD: raiz quadrada das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado; PNN50: percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 ms de seu adjacente; HF: high frequency; LF: low frequency.

Tabela 4. Comparação dos índices de VFC no período fetal (5° mês) e no período neonatal em ovinos da raça Dorper.

VFC	5° mês	24 horas	7 dias	14 dias	21 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias
FC Min.	153±13,49 ^a	178±39,43 ^a	165±35,70 ^a	164±26,93 ^a	137±39,77 ^a	134±25 ^a	130±21,88 ^a	140±13,48 ^a	131±18,18 ^a
FC Méd.	191±16,43 ^a	199±38,71 ^{ab}	199±37,74 ^{ab}	179±27,45 ^{ab}	159±40,57 ^{ab}	149±28,09 ^b	162±25,03 ^{ab}	154±17,33 ^{ab}	149±17,53 ^{ab}
FC Máx.	248±23,44 ^a	239±34,30 ^{ab}	245±32,25 ^{ab}	213±38,70 ^{ab}	205±47,14 ^{ab}	171±31 ^b	217±27,98 ^{ab}	176±22,07 ^{ab}	199±38,76 ^{ab}
RR (ms)	315±28,23 ^a	311±62,64 ^{abcd}	311±61,30 ^{abcd}	340±50,44 ^{abcd}	398±98,18 ^{abcd}	414±70,85 ^{bcd}	380±71,23 ^{abcd}	393±53,38 ^{bcd}	405±48,59 ^{bcd}
SDNN (ms)	5,7±2,68 ^a	1,77±1,39 ^{abcd}	3,19±2,90 ^{abcd}	1,17± 1,75 ^{bcd}	3,53±4,15 ^{abcd}	0,69±0,14 ^{bcd}	3,83±2,98 ^{abcd}	0,71±0,09 ^{bcd}	3,14±2,52 ^{bcd}
RMSSD (ms)	3,71±2,30 ^a	0,66±0,44 ^b	1,38±1,22 ^b	0,56±0,59 ^b	1,45±1,45 ^a	0,52±0,14 ^b	1,70±1,07 ^a	0,48±0,08 ^b	1,30±0,84 ^a
PNN50 (%)	0,6±0,25	0±0	0,01±0,04	0,01±0,03	0±0	0±0	0,03±0,07	0±0	0,01±0,04
LF (n.u.)	48,78±29,71	75,45±8,20	75,19±16,44	72,81±9,48	65,08±15,68	60,58±16,47	53,73±17,90	66,77±6,94	62,86± 11,03
HF (n.u.)	50,97±29,51	24,51±8,19	24,75±16,40	27,14±9,45	34,81±15,63	39,35±16,49	46,17±17,90	34,50±9,83	37,04±10,98
LF/HF	50,97±29,51	3,65±2,20	5,12±5,16	3,10±1,35	3,07±3,38	1,93±1,08	1,59±1,26	5,49±11,39	1,90±0,78

Comparação entre momentos teste de Friedmann; n.u. = normalizadas. FC: frequência cardíaca; Min: mínima; Med: média; Máx: máxima; RR: intervalos RR; SDNN: desvio-padrão da média de todos os intervalos RR; RMSSD: raiz quadrada das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado; PNN50: percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 ms de seu adjacente; HF: high frequency; LF: low frequency

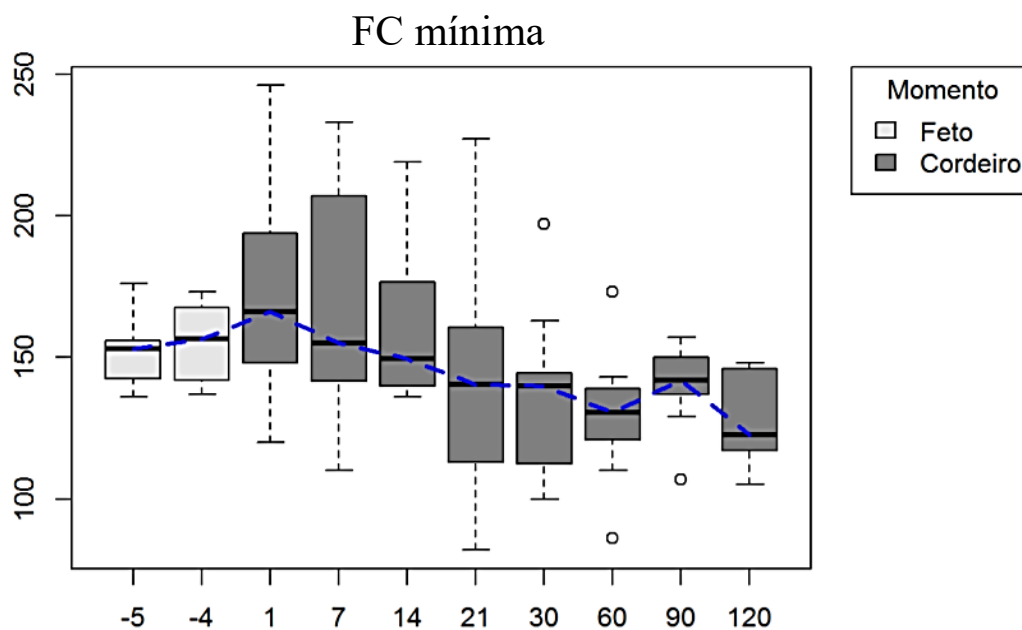


Figura 7. Representação esquemática FC mínima no período fetal e neonatal em cordeiros da raça Dorper (-5: 5º mês gestação; -4: 4º mês gestação; 1: 24 horas de vida; 7, 14, 21, 30, 60, 90 e 120 dias de idade).

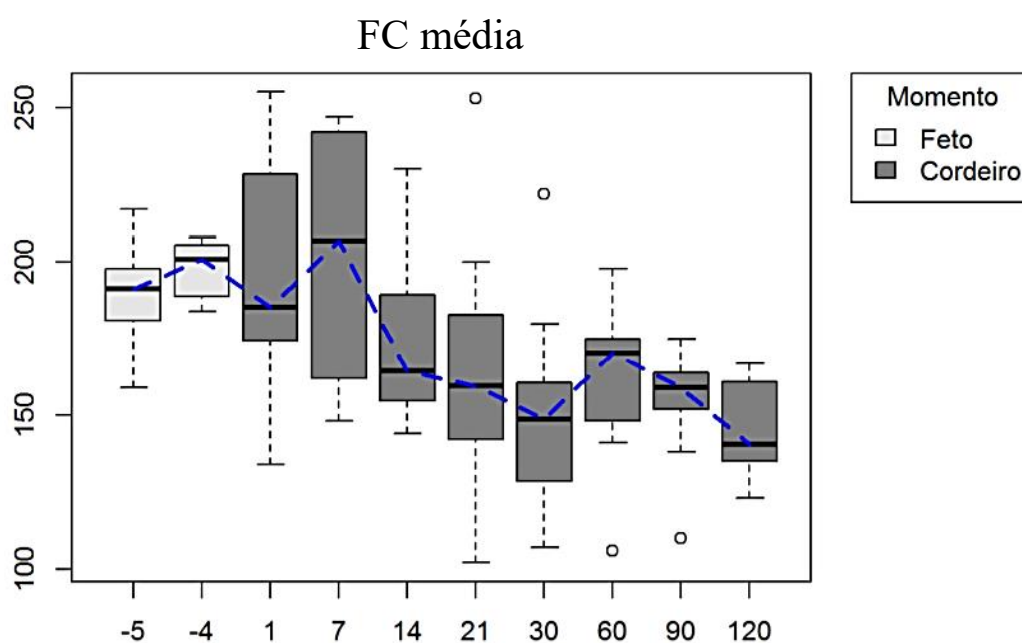


Figura 8. Representação esquemática FC média no período fetal e neonatal em cordeiros da raça Dorper (-5: 5º mês gestação; -4: 4º mês gestação; 1: 24 horas de vida; 7, 14, 21, 30, 60, 90 e 120 dias de idade).

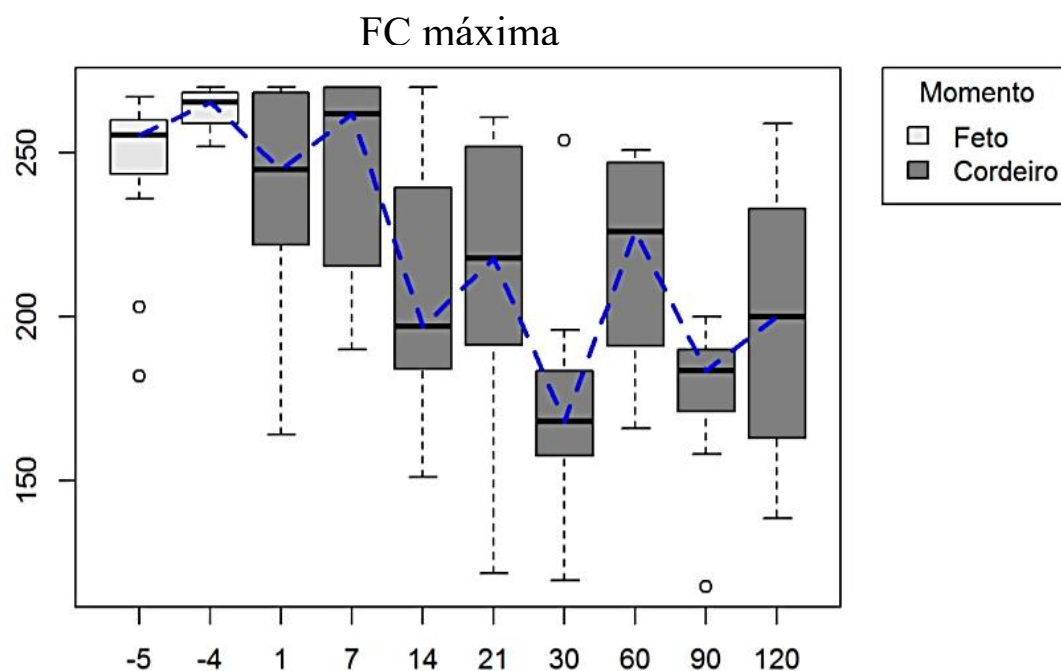


Figura 9. Representação esquemática FC máxima no período fetal e neonatal em cordeiros da raça Dorper (-5: 5º mês gestação; -4: 4º mês gestação; 1: 24 horas de vida; 7, 14, 21, 30, 60, 90 e 120 dias de idade).

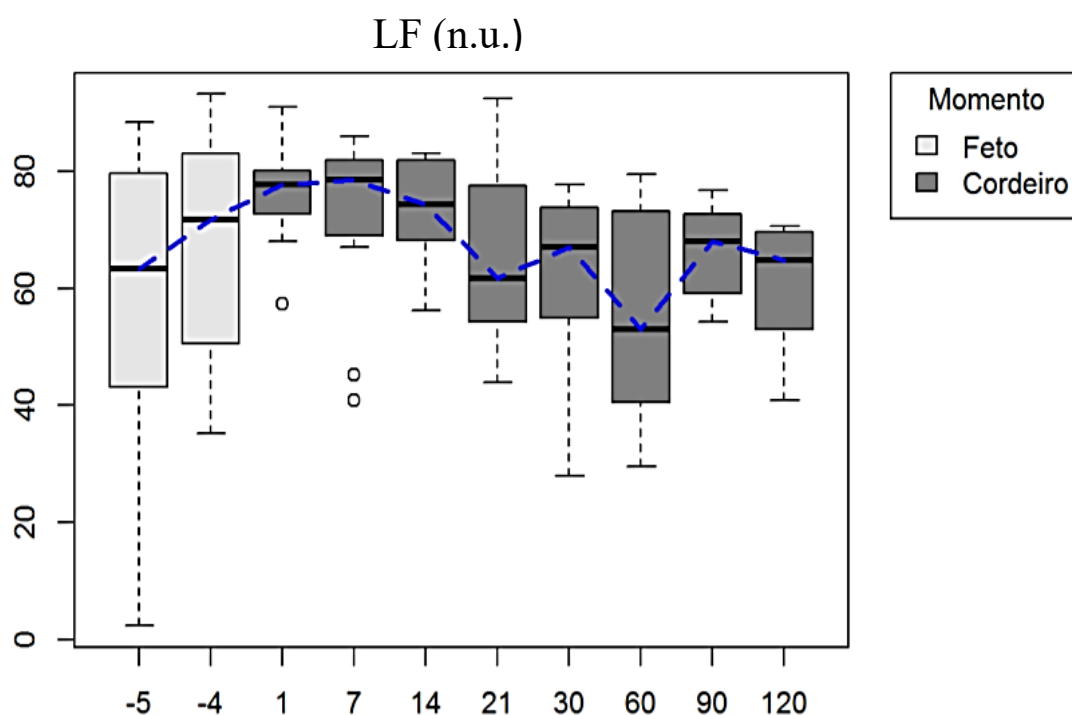


Figura 10. Representação esquemática índice de VFC no domínio da frequência LF (n.u.) no período fetal e neonatal em cordeiros da raça Dorper (-5: 5º mês gestação; -4: 4º mês gestação; 1: 24 horas de vida; 7, 14, 21, 30, 60, 90 e 120 dias de idade).

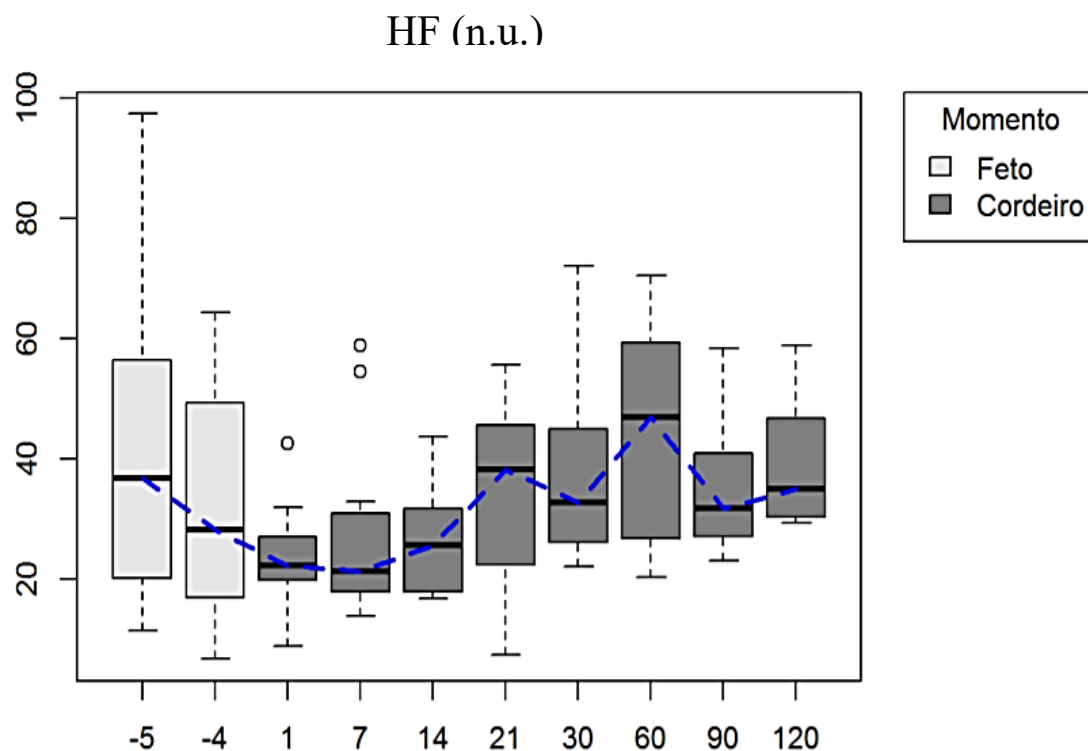


Figura 11. Representação esquemática índice de VFC no domínio da frequência HF (n.u.) no período fetal e neonatal em cordeiros da raça Dorper (-5: 5º mês gestação; -4: 4º mês gestação; 1: 24 horas de vida; 7, 14, 21, 30, 60, 90 e 120 dias de idade).

Posteriormente, o comportamento da FC e dos índices de VFC no período fetal e no período neonatal foram demonstrados nos gráficos 1, 2 e 3. A FCF máxima foi superior em relação à FC máxima de neonatos. A FC média se assemelhou na fase fetal e neonatal, porém com 21 dias a FC média foi inferior à fetal. O índice LF foi superior em cordeiros no desenvolvimento em relação à fase fetal. O índice HF foi inferior na fase neonatal em relação à fase fetal, porém conforme o desenvolvimento progrediu o mesmo elevou-se.

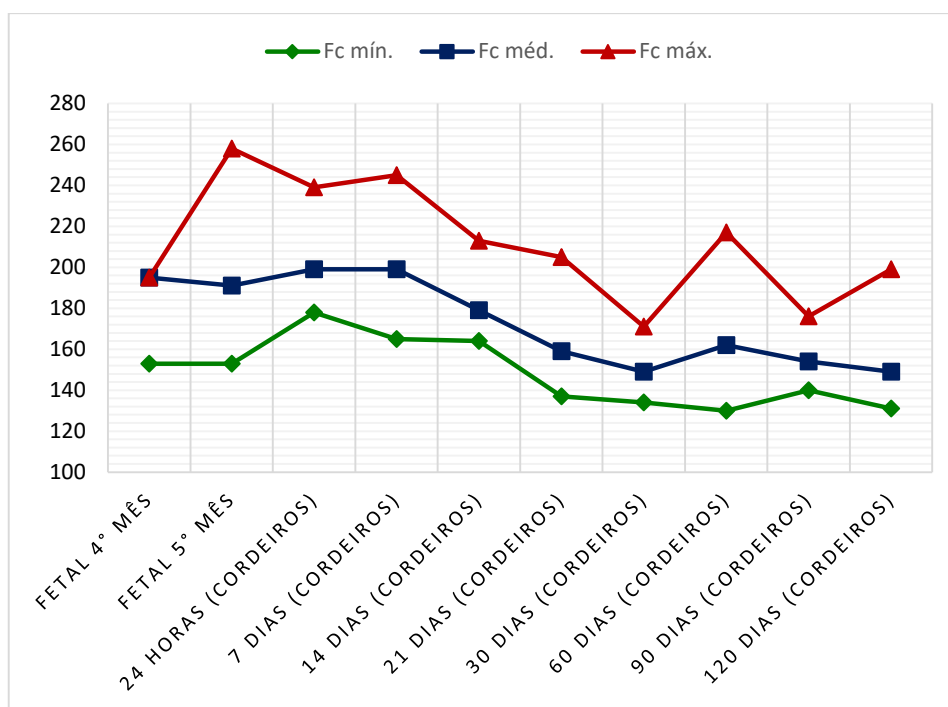


Gráfico 1. FC mínima, FC média e FC máxima em fetos ovinos da raça Dorper e em cordeiros após o nascimento até 120 dias de idade.

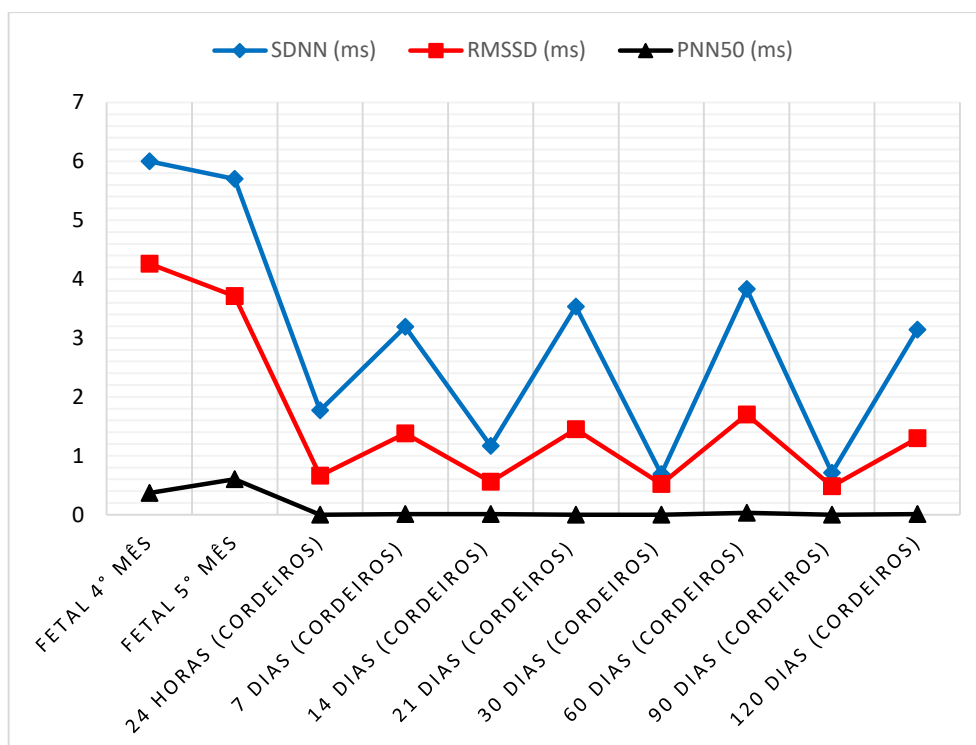


Gráfico 2. Índices de VFC no domínio do tempo (SDNN, RMSSD, PNN50) em fetos ovinos da raça Dorper e em cordeiros após o nascimento até 120 dias de idade.

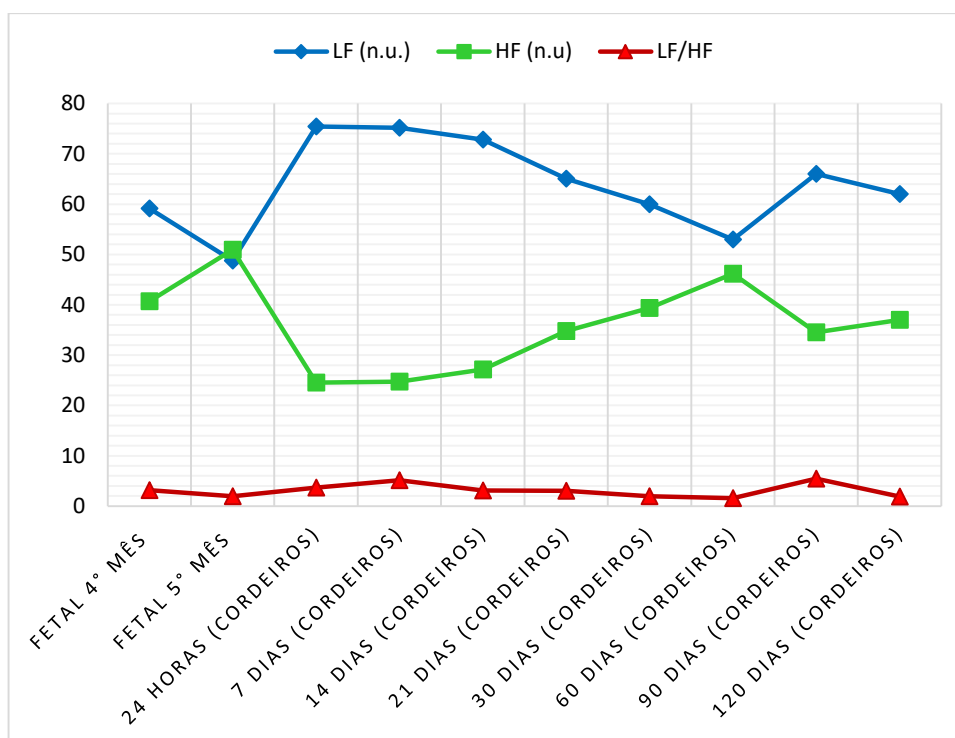


Gráfico 3. Índices de VFC no domínio da frequência (LF, HF, LF/HF) em fetos ovinos da raça Dorper e em cordeiros após o nascimento até 120 dias de idade.

DISCUSSÃO

Em nosso estudo acreditamos que a idade gestacional bem como o desenvolvimento do SNA contribuiu para a aquisição de dados com qualidade superior nos dois últimos meses de gestação. A maturidade do SNA deve ser um fator considerado para a aquisição de parâmetros fetais na espécie ovina, uma vez que a FCF no quinto mês de gestação foi inferior em relação ao quarto mês. A atividade cardíaca fetal depende da idade gestacional e, portanto, da maturação do SNA. Com a gestação, a regulação da atividade cardíaca fetal pelo sistema nervoso simpático e parassimpático torna-se cada vez mais complexa [23] e desenvolver a capacidade autonômica de se adaptar à quantidades variáveis de oferta e demanda no organismo é uma das principais necessidades durante a maturação fetal [37].

De acordo com o comportamento da FCF e da VFC fetal observado em nosso estudo acreditamos que no último mês gestacional há predominantemente atividade

parassimpática em fetos ovinos, porém não houve diferenças entre os períodos avaliados o que pode ser em detrimento do tamanho relativamente pequeno da amostra. Garabedian *et al.* [7] realizaram um estudo visando avaliar os índices de VFC fetal bem como se os índices HF e RMSSD, referidos como representantes da atividade parassimpática, eram fidedignos para ilustrá-la. Para tanto, os autores administraram propranolol (bloqueador da atividade simpática) e atropina (parassimpatolítico) em fetos ovinos. Os autores observaram que o componente espectral HF e o índice RMSSD reduziram após a atropina confirmando que esses índices eram específicos para ilustrar a atividade do SNP.

Apesar da relação LF/HF não diferir significativamente entre o quarto e quinto mês de gestação em nosso estudo, observamos que essa relação reduziu no último mês. Uma vez que o índice HF representa a atividade parassimpática acreditamos que essa redução da relação no último mês seja em decorrência de um aumento da atividade parassimpática. O predomínio da atividade parassimpática no último mês de gestação bem como os menores valores de FCF no quinto mês em relação ao quarto mês podem ser em decorrência da proximidade do parto. Existe uma correlação negativa entre idade gestacional e FCF [21] sendo essa relação interpretada como uma regulação cardíaca cada vez mais complexa pelo SNA em direção ao término da gestação [24].

Em bovinos a liberação fetal de cortisol aumenta acentuadamente durante a última semana de gestação [33]. Esse aumento coincide com mudanças na VFC de fetos a termo, aparentemente refletindo a maturação final da regulação da função cardíaca pelo SNA. Em contraste com o feto bovino, em fetos equinos, um aumento pronunciado de cortisol ocorre somente nos últimos dois dias antes do nascimento e não foi associado à um aumento da VFC fetal [18].

A avaliação da VFC fetal do segundo e terceiro mês de gestação em nosso estudo foi comprometida devido à artefatos que encontramos na espécie ovina, o que pode ser

devido à gordura corporal materna, sendo a raça Dorper considerada de corte, e ao trato gastrointestinal da espécie. Também os artefatos podem ser em decorrência do método de avaliação da VFC empregado (Televet 100®), uma vez que o mesmo designa-se principalmente para avaliação em animais da espécie equina. Estudos empregando outros métodos para avaliação da VFC fetal podem reduzir a interferência de artefatos, bem como o emprego de outras raças (raças de leite, peso inferior) pode facilitar a aquisição e compreensão da atividade do SNA no período fetal.

Trenk *et al.* [40] em seus estudos com bovinos referiram que apenas 50% do tempo de gravação de 60 minutos em vacas forneceu um sinal constante que permitiu a avaliação da FCF e da VFC e que este tempo aumentou para mais de 60% em novilhas. Os autores acreditam que esse fato é provável devido ao menor tamanho da mãe e melhor acesso ao feto e que embora a eletrocardiografia feto-materna consistentemente permitisse a detecção de sinais cardíacos em fetos bovinos ao final da gestação, a técnica foi menos confiável do que em equinos. Segundo os autores, em humanos, a VFC fetal eleva-se acentuadamente após a 30ª semana de gestação, refletindo a maturação do SNA.

Assim em nosso estudo, a obtenção dos dados de VFC fetal foi evidente no quarto e quinto mês de gestação, sendo possível aplicar o método na espécie ovina porém há limitações. Em equinos a eletrocardiografia fetal transcutânea (ECG tc) pode ser utilizada para avaliar a viabilidade fetal em éguas gestantes após 150 dias de gestação, porém a aquisição e interpretação de sinais cardíacos fetais são prejudicadas devido à artefatos causados pela posição fetal, pelo sinal de ECG materno mais evidente, mascarando o sinal fetal, e por ruído eletrônico. A interpretação do eletrocardiograma fetal também é limitada pela pequena amplitude do sinal de ECG tc fetal e diferenças marcantes na FC entre fetos [20].

Para os índices de VFC no domínio do tempo analisados nos cordeiros nos períodos etários, a FC mínima, média e máxima reduziram a partir de 21 dias, bem como a duração dos intervalos RR prolongou-se a partir desse período, o que pode ser devido ao equilíbrio, a partir desse momento, dos ramos do SNA em cordeiros. Porém aos 60 dias a FC média e máxima elevaram-se novamente. Acreditamos que esse fato possa ter ocorrido devido à manipulação dos animais, uma vez que conforme os mesmos se desenvolviam a manipulação limitava-se e os animais demonstravam-se agitados, o que também reflete as limitações do trabalho a campo.

Chiacchio *et al.* [4] em seu estudo visando avaliar a VFC em cordeiros da raça Ille de France através do exame de Holter durante o período neonatal observaram que a FC reduziu progressivamente ao longo do período do estudo (nascimento até 35 dias de idade), bem como o índice PNN50 elevou-se nesse período, evidenciando que a maturidade do SNA parassimpático progride com o desenvolvimento. Por outro lado, Koether *et al.* [10] em seu estudo visando avaliar os parâmetros eletrocardiográficos em cordeiros da raça Bergamasca durante o desenvolvimento, também no mesmo período avaliado por Chiacchio *et al.*, referiram que a FC reduziu e o intervalo RR elevou-se do nascimento aos 35 dias de idade, havendo correlação negativa entre idade e FC.

Os índices de VFC SDNN e RMSSD apresentaram oscilações durante o desenvolvimento, elevando-se e reduzindo-se a cada período avaliado. Uma vez que o índice SDNN ilustra a atividade de ambos os ramos do SNA e o índice RMSSD ilustra a atividade parassimpática [18], acreditamos que essas oscilações sejam devido à atividade dos dois ramos em conjunto visando manter um equilíbrio autonômico. Observamos também que no mesmo período de 60 dias, onde a FC eleva-se novamente, o índice RMSSD também elevou-se, demonstrando uma maior atividade parassimpática nesse

período, provavelmente para equilibrar o estímulo simpático pela agitação da manipulação.

A partir de 21 dias observamos que o índice LF reduziu e, opostamente, o índice HF elevou-se. Esse fato ilustra que a atividade simpática (LF) prevalece dominante até esse período, onde a partir desse momento o SNA parassimpático passou a demonstrar maior atuação havendo um equilíbrio autonômico nessa faixa etária. Observamos que os índices no domínio do tempo e os do domínio da frequência apresentaram em comum diferenças significativas entre os períodos etários de 7 e 14 dias e 14 e 21 dias, o que nos permite inferir e enfatiza que nessa faixa etária a transição para um predomínio da atividade parassimpática parece evidente.

Quanto mais inadequado o funcionamento do SNA, mais o organismo tende a perder o comportamento caótico tendendo à linearidade. Isso também parece ser válido para recém-nascidos, especialmente nos prematuros, uma vez que o sistema nervoso ainda não está completamente maduro nesse grupo de indivíduos. A idade tem grande influência sobre esse balanço dos sistemas simpático e parassimpático, onde quanto maior a idade, menor a VFC. Essa relação, porém, se inverte quando considera-se adultos jovens em direção aos recém-nascidos, tendo esses variabilidade menor que os adultos jovens, provavelmente em decorrência de um SNA ainda não completamente desenvolvido [34].

Em nosso estudo não avaliamos a FC bem como os índices de VFC em relação ao ritmo circadiano, mas acreditamos haver uma influência desse ritmo nas oscilações encontradas para VFC e FC conforme cita Piccirillo *et al.* [28]. Kovács *et al.* [12] em seu estudo com animais da espécie bovina avaliando o comportamento dos índices de VFC nos períodos diurnos e noturnos referiram haver predominância da atividade simpática durante períodos ativos (diurno) e também no verão, onde assim como a FC, os

parâmetros espectrais mostraram ritmos circadianos significativos no verão, mas não no inverno.

Assim, em nosso estudo os cordeiros foram avaliados somente no verão e durante o período diurno, então acreditamos que a avaliação dos animais no verão (temperatura elevada) e durante o período diurno pode ter influenciado nossos resultados, com exceção dos resultados obtidos 24 horas após o parto onde os animais foram avaliados tanto no período diurno quanto noturno, conforme as mães pariam. Adicionalmente, também como referido por Kovács *et al.* [12] os fatores ambientais, alimentação e atividade locomotora também podem ter influenciado nossos resultados. Estudos são necessários para avaliar o ritmo circadiano em cordeiros do nascimento e durante o seu desenvolvimento, bem como o comportamento da VFC em cordeiros e sua relação com o ritmo circadiano.

Para a interpretação de nossos resultados também ressaltamos a importância de se considerar o fator estresse envolvido, principalmente quanto aos índices de VFC e comportamento da FC. Vögeli *et al.* [41] estudaram as reações cerebrais que ocorreram em ovelhas frente à estímulos positivos e negativos. Os autores referiram que na transição de situações negativas para positivas houve uma redução no número de movimentos de orelha, na proporção de movimentos de membros, na proporção de posturas assimétricas de orelha (refletindo mudanças no comportamento), uma redução na FC e FR (mudanças fisiológicas), e ativação do córtex frontal menos evidente, associada à um deslocamento da ativação para o lado esquerdo do cérebro. Os autores sugerem que deve-se considerar a valência emocional para avaliação também em animais de fazenda, sendo esse termo considerado o valor emocional atribuído à uma situação ou estímulo que varia entre um pólo de negatividade para um pólo de positividade.

O desenvolvimento de uma placenta artificial tem sido objeto de investigação há mais de 50 anos, com sucesso limitado [33]. Os principais obstáculos encontrados foram insuficiência cardíaca congestiva devido ao desequilíbrio da pré-carga ou da pós-carga imposta ao coração fetal pela resistência do oxigenador e pelos circuitos apoiados pela bomba, uso de incubadoras de fluido abertas resultando em contaminação e sepse fetal, e também problemas relacionados ao acesso vascular umbilical resultando em espasmo [2].

Partridge *et al.* [26] demonstraram que cordeiros prematuros fetais podem ser consistentemente apoiados em um dispositivo extracorpóreo por até quatro semanas sem distúrbios fisiológicos aparente ou falência de órgãos, onde com suporte nutricional adequado, os cordeiros apresentaram crescimento somático normal, maturação pulmonar e crescimento e mielinização cerebral adequada. Assim, de acordo com o estudo de Partridge *et al.* [26], as pesquisas translacionais empregando a espécie ovina vem se destacando e proporcionando avanços no diagnóstico e terapia de afecções cardiovasculares, bem como suporte para o desenvolvimento neonatal artificial, o que acarreta em melhorias e destaca os estudos em neonatologia, promovendo um acompanhamento e intervenção precoce para possíveis intercorrências que limitem o desenvolvimento e a saúde fetal.

Enfatizamos neste estudo a importância do emprego da análise da VFC fetal e neonatal, uma vez que a mesma demonstrou-se eficaz para avaliar o comportamento do SNA, podendo ser empregada para avaliar a viabilidade fetal bem como o comportamento da mesma em situações que envolvam afecções distintas que possam limitar o desenvolvimento fetal e neonatal, e também a importância da assistência em cordeiros durante o desenvolvimento, uma vez que nessa fase uma série de adaptações fisiológicas são necessárias para a transição fetal-neonatal. Rivolta *et al.* [31] realizaram um estudo visando avaliar o comportamento da FCF frente à hipóxia e acidemia. Os autores

referiram que para um maior grau de acidemia, as frequências dominadas pelo componente parassimpático do SNA se tornam predominantes. Frasch *et al.* [5] relataram que em ovelhas gestantes o índice RMSSD apresentou mudanças mais pronunciadas durante a acidemia e Siira *et al.* [36] constataram que, em uma fase aguda da hipóxia, sem acidemia, ocorre ativação do SNA simpático, enquanto que, na acidemia, a influência vagal aumenta.

A ativação do SNA por hipóxia inicial e aguda provavelmente constitui uma resposta adaptativa de primeira linha e resulta de uma modulação de FCF pronunciada e maior resposta cardiovascular. Além disso, o envolvimento predominante do tônus vagal tem sido associado à uma modulação mais eficiente do SNA [39]. Na presença de hipóxia aguda, a redução da FCF atua como um mecanismo protetor do feto, uma vez que reduz o trabalho miocárdico e o consumo de oxigênio, sendo essa redução mediada por quimiorreceptores através do ramo parassimpático. Quando a regulação vagal se torna inadequada, alguns dos mecanismos adaptativos (como a adaptação circulatória mediada por quimiorreceptores) podem falhar causando dano cerebral fetal e, por fim, morte fetal [30].

CONCLUSÕES

Em ovinos a maturação do SNA parece se iniciar ao final da gestação havendo predomínio da atividade parassimpática nesse período. Apesar da presença de atividade parassimpática fetal no último mês gestacional as interações complexas entre ambos os ramos do SNA ainda necessitam de estudos futuros. A partir de 21 dias de idade em cordeiros a FC reduz. Esses resultados ilustram a importância de pesquisas relacionadas à atividade do SNA, uma vez que a detecção de desequilíbrio autonômico através da VFC pode permitir a investigação de prováveis alterações sistêmicas e intervenção precoce em

fetos e neonatos humanos e ovinos, reduzindo as taxas de morbidade e mortalidade fetal e neonatal.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo fornecimento da bolsa, à FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo auxílio pesquisa, à Clínica Médica de Grandes Animais da FMVZ-UNESP, Botucatu e à cabanha Estrela do Vale, Sítio Vale Verde, Botucatu-SP, Brasil.

FINANCIAMENTO

Este trabalho foi apoiado pela FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), número 2017/15121-9.

REFERÊNCIAS

- 1 Borrel, E.V., Langbein, J., Després, G., Hansen, S., Leterrier, C., Forde, J.M., Forde, R.M., Minero, M., Mohr, E., Prunier, A., Valance, D., Veissier, I. 2007. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals — A review. *Physiol. Behav.* **92**: 293–316.
- 2 Callaghan, J.C., Angeles, J., Boracchia, B., Fisk, L., Hallgren, R. 1963. Studies of the first successful delivery of an unborn lamb after 40 minutes in the artificial placenta. *Can. J. Surg.* **6**:199–206.
- 3 Chaswal, M., Kapoor, R., Batra, A., Verma, S., Yadav, S. 2018. Heart Rate Variability and Cardiovascular Reflex Tests for Assessment of Autonomic Functions in Preeclampsia. *Int. J. Hypertens.* **2018**:1-7.

- 4 Chiacchio, S.B., Ulian, C.M.V., Gonçalves, R.S., Padovani, C.R., Cruz, R.K.S, Santarosa, B.P., Alfonso, A., Lourenço, M.L.G. 2018. Electrocardiographic dynamic development and heart rate variability in lambs during the neonatal period. *J. Appl. Anim. Res.* **46**:1137-1143.
- 5 Frasc, M.G., Mansano, R.Z., Gagnon, R., Richardson, B.S., Ross, M.G. 2009. Measures of acidosis with repetitive umbilical cord occlusions leading to fetal asphyxia in the near-term ovine fetus. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **200**:1-7.
- 6 Fyfe, K.L., Yiallourou, S.R., Wong, F.Y., Horne, R.S.C. 2014. The development of cardiovascular and cerebral vascular control in preterm infants. *Sleep Med. Rev.* **18**: 299-310.
- 7 Garabedian, C., Champion, C., Servan-Schreiber, E., Butruille, L., Aubry, E., Sharma, D., Logier, R., Deruelle, P., Storme, L., Houfflin-Debarge, V., Jonckheere, J. 2017. A new analysis of heart rate variability in the assessment of fetal parasympathetic activity: An experimental study in a fetal sheep model. *Plos One.* **12**: 1-10.
- 8 Gyselaers, W., Spaanderman, M. 2018. Assessment of venous hemodynamics and volume homeostasis during pregnancy: recommendations of the International Working Group on Maternal Hemodynamics. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **52**:174–185.
- 9 Gunn, A. J., Bennet, L. 2009. Fetal Hypoxia Insults and Patterns of Brain Injury: Insights from Animal Models. *Clin. Perinatol.* **36**:579–593.
- 10 Ille, N., Erber, R., Aurich, C., Aurich, J. 2014 Comparison of heart rate and heart rate variability obtained by heart rate monitors and simultaneously recorded electrocardiogram signals in nonexercising horses. *J. Vet. Behav.* **9**: 341-346.

- 11 Koether, K., Ulian, C.M.V., Lourenço, M.L.G., Gonçalves, R.S., Sudano, M.J., Cruz, R.K.S., Branchini, N.S., Alfonso, A. 2016. The normal electrocardiograms in the conscious newborn lambs in neonatal period and its progression. *BMC Physiol.* **16**:1-12.
- 12 Kovács, L., Kézér, F.L, Ruff, F., Szenci, O. 2016 Cardiac autonomic activity has a circadian rhythm in summer but not in winter in non-lactating pregnant dairy cows. *Physiol. Behav.* **155**:56–65.
- 13 Kyojuka, H., Yasuda, S., Hiraiwa, T., Nomura, Y., Fujimori, K. 2018. The change of fetal heart rate short-term variability during the course of histological chorioamnionitis in fetal sheep. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **228**:32-37.
- 14 Jonckheer-Sheehy, V.S.M, Vinke, C.M., Ortolani, A. Validation of a Polar® human heart rate monitor for measuring heart rate and heart rate variability in adult dogs under stationary conditions. *J. Vet. Behav.* **7**:205-212, 2012.
- 15 Joyce, D., Barrett, M. 2018. State of the science: heart rate variability in health and disease. *BMJ Support Palliat Care* **10**:1-3.
- 16 Malliani, A., Lombardi, F., Pagani, M. 1994. Power spectrum analysis of heart rate variability: a tool to explore neural regulatory mechanisms. *Br. Heart J.* **71**:1-2.
- 17 Miller, D.A., Miller, L.A. 2012. Electronic fetal heart rate monitoring: applying principles of patient safety. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **206**:278-283.
- 18 Mordak, R., Anthony, S.P. 2015. Periparturient stress and immune suppression as a potential cause of retained placenta in highly productive dairy cows: examples of prevention. *Acta Vet. Scand.* **57**:1-8.

- 19 Mulkey, S.B., Kota, S., Swisher, C.B., Hitchings, L., Metzler, M., Wang, M., Maxwell, G.L., Bakere. R., Plessisa, A.J., Govindan, R. 2018. Autonomic nervous system depression at term in neurologically normal premature infants. *Early Hum. Dev.* **123**:11–16.
- 20 Nagel, C., Aurich, J., Aurich, C. 2010. Determination of heart rate and heart rate variability in the equine fetus by feto maternal electrocardiography. *Theriogenology*. **73**: 973–983.
- 21 Nagel, C., Aurich, J., Aurich, C. 2011. Heart Rate and Heart Rate Variability in the Pregnant Mare and its Foetus. *Reprod. Dom. Anim.* **46**:990–993.
- 22 Nagel, C., Erber, R., Bergmaier, C., Wulf, M., Aurich, J. Mostl, E., Aurich, C. 2012. Cortisol and progestin release, heart rate and heart rate variability in the pregnant and postpartum mare, fetus and newborn foal. *Theriogenology*. **78**:759–767.
- 23 Nagel, C., Trenk, C., Aurich, J., Wulf, M., Aurich, C. 2016a. Changes in blood pressure, heart rate, and blood profile in mares during the last 3 months of gestation and the peripartum period. *Theriogenology*. **86**:1-9.
- 24 Nagel, C., Aurich, J., Trenk, L., Ille, N., Drillich, M., Pohl, W., Aurich, C. 2016b. Stress response and cardiac activity of term and preterm calves in the perinatal period. *Theriogenology*. **86**:1498–1505.
- 25 Nageotte, M.P. 2015. Fetal heart rate monitoring. *Semin. Fetal Neonatal Med.* **20**:144-148.
- 26 Partridge, E.A., Davey, M.G., Hornick, M.A., McGovern, P.E., Mejaddam, A.Y., Vrecenak, J.D., Mesas-Burgos, C., Olive, A., Caskey, R.C., Weiland, T.R., Han, J., Schupper, A.J., Connelly, J.T., Dysart, K.C., Rychik, J., Hedrick, H.L., Peranteau. W.H.,

Flake, A.W. 2017. An extra-uterine system to physiologically support the extreme premature lamb. *Nat. Commun.* **8**:1-15.

27 Peyronnet, J., Dalmaz, Y., Ehrström, M., Mamet, J., Roux, J.C., Pequignot, J.M., Thorén, P.H., Lagercrantz, H. 2002. Long-lasting adverse effects of prenatal hypoxia on developing autonomic nervous system and cardiovascular parameters in rats. *Eur. J. Physiol.* **443**:858–865.

28 Piccirillo, G., Viola, E., Nocco, M., Durante, M., Tarantini, S., Marigliano, V. 2000. Autonomic modulation of heart rate and blood pressure in normotensive offspring of hypertensive subjects. *J. Lab. Clin. Med.* **135**:145–52.

29 Pieper, S., Brosschot, J.F., van der Leeden, R., Thayer, J.F. 2007. Cardiac effects of momentary assessed worry episodes and stressful events. *Psychosom. Med.* **69**:901–909.

30 Rivolta, M.W., Stampalija, T., Casati, D., Richardson, B.S., Ross, M.G., Frasc, M.G., Bauer, A., Ferrazzi, E., Sassi, R. 2014. Acceleration and Deceleration Capacity of Fetal Heart Rate in na In-Vivo Sheep Model. *Plos One* **9**:1-10.

31 Sammito, S., Böckelmann, I. 2016. Reference values for time- and frequency-domain heart rate variability measures. *Heart Rhythm.* **13**:1309-1316.

32 Santos, V.J.C., Rodriguez, M.G.K., Silva, P.A., Mariano, R. S.G., Taira, A.R., Almeida V.T., Uscategui, R.A.R., Nociti, R.P., Teixeira, P.P.M., Feliciano, M.A.R., Vicenti, W.R.R. 2018. B-mode ultrasonography and ecobiometric parameters for assessment of embryonic and fetal development in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* **197**:193-202.

- 33 Schlafer, D.H., Fisher, P.J., Davies, C.J. 2000. The bovine placenta before and after birth: placental development and function in health and disease. *Anim. Reprod. Sci* **60**:145–160.
- 34 Selig, F.A., Tonolli, E.R., da Silva, E.V.C.M., Godoy, M.F. 2011. Variabilidade da Frequência Cardíaca em Neonatos Prematuros de Termo. *Arq. Bras. Cardiol.* **96**: 443-449.
- 35 Shaw, C.J., Lees, C.C., Giussani, D.A. 2016. Variations on fetal heart rate variability. *J. Physiol.* **594**:1279–1280.
- 36 Siira, S., Ojala, T., Vahlberg, T., Rose, K., Ekholm, E. 2013. Do spectral bands of fetal heart rate variability associate with concomitant fetal scalp pH? *Early Hum Dev.* **89**:739–742.
- 37 Schneider, U., Bode, F., Schmidt, A., Nowack, S., Rudolph, A., Doelcker, E.A., Schlattmann, P., Götz, T., Hoyer, D. 2018. Developmental milestones of the autonomic nervous system revealed via longitudinal monitoring of fetal heart rate variability. *Plos One.* **13**:1-13.
- 38 Tarvainen, M. P., Ranta-Aho, P.O., Karjalainen, P.A. 2002. An Advanced Detrending Method with Application to HRV Analysis. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **49**:172-175.
- 39 Thayer, J. F., Yamamoto, S.S., Brosschot, J.F. 2010. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. *Int. J. Cardiol.* **141**: 122-131.
- 40 Trenk, L., Kuhl, J., Aurich, J., Aurich, C., Nagel, C. 2015. Heart rate and heart rate variability in pregnant dairy cows and their fetuses determined by fetomaternal electrocardiography. *Theriogenology.* **84**:1405–1410.

- 41 Vögeli, S., Lutza, J., Wolf, M., Wechslera, B., Gygax, L. 2014. Valence of physical stimuli, not housing conditions, affects behaviour and frontal cortical brain activity in sheep. *Behav. Brain Res.* **267**:144–155.
- 42 Weissbach, T., Heusler, I., Ovadia, M., David, L., Daykan, Y., Schreiber, F., Biron-Shental, T. 2018. The temporal effect of Category II fetal monitoring on neonatal outcomes. *Eur J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **229**:8-14.
- 43 Yiallourou, S.R., Sands, S.A., Walker, A.M., Horne, R.S.C. 2011. Maturation of heart rate and blood pressure variability during sleep in term-born infants. *Sleep* **35**:177-186.
- 44 Yiallourou, S.R., Witcombe, N.B., Sands, S.A., Walker, A.M., Horne, R.S.C. 2013. The development of autonomic cardiovascular control is altered by preterm birth. *Early Hum. Dev.* **89**:145–152.

CAPÍTULO III

DISCUSSÃO GERAL

No período gestacional processos fisiológicos se alteram para adaptar o organismo materno à concepção do feto, entre estes, o sistema cardiovascular, que responde com alterações hemodinâmicas e, em particular, aumento do DC e redução da resistência vascular sistêmica. Essas alterações desempenham um papel importante na manutenção da perfusão uterina e são essenciais para o desenvolvimento fetal (ALMEIDA et al., 2017).

Durante a extensão do estudo observamos modificações nos índices de VFC, parâmetros clínicos e ecocardiográficos maternos, e em cordeiros, sendo que, conforme os cordeiros se desenvolvem parece ainda haver maturação do SNA. Aos 21 dias de idade os parâmetros clínicos e a FC se aproximam de valores fisiológicos para a espécie. Após o período de 21 dias, a FC elevou-se novamente aos 60 dias porém, acreditamos que as modificações metabólicas que ocorrem durante o desenvolvimento contribuíram para tais resultados.

Parâmetros maternos: clínicos, ecocardiograma e VFC

Para os parâmetros maternos avaliados observamos modificações com o avançar do período gestacional. A FC, a FR e a temperatura corporal materna foram superiores no quinto mês gestacional, sendo que a FC obtida pelo método oscilométrico duas horas e 24 horas após o parto foram superiores aos valores encontrados no último mês gestacional. Um aumento no volume sistólico foi relatado imediatamente após o parto, possivelmente causado pelo alívio da oclusão da veia cava, sendo que o DC retorna aos valores não gestantes em seis semanas em mulheres (HUNTER, ROBSON, 1992). Os referidos autores observaram que tanto o DC quanto a FC retornaram aos valores pré-gestacionais em duas semanas após o parto. Desta forma, os valores ainda elevados de FC e PA horas após o parto podem ser em detrimento das alterações fisiológicas adaptativas da prenhez, que necessitam de até semanas para retornarem à normalidade.

Também, para os parâmetros clínicos FR e temperatura corporal, ressaltamos que os mesmos podem ter sofrido influência do ritmo circadiano, não avaliado no presente estudo, bem como da estação do ano em que se sucederam às avaliações do último mês gestacional, uma vez que as coletas se iniciaram durante o período de inverno, sendo finalizadas no verão.

A partir de 60 dias de gestação em ovelhas há elevação nas concentrações de progesterona com aumento gradual durante o período, onde o hormônio promove redução do tônus vascular e também natriurese, reduzindo assim a RVP. Também no terço final da gestação em ovelhas ocorre dilatação dos vasos cotiledonários devido à ação do estrógeno, o que promove duplicação do fluxo sanguíneo placentário. Próximo do parto o DC aumenta devido ao maior retorno venoso em relação a cada contração uterina, e após o parto o DC aumenta ainda mais devido à descompressão das veias cavas abdominais (PRESTES, LANDIM-ALVARENGA, 2006).

Para os parâmetros ecocardiográficos maternos, em nosso estudo observamos aumento da espessura do SIVd e SIVs em relação ao período inicial da gestação, sendo que o DIVEd e o DIVEs foram superiores no segundo e terceiro mês gestacional. Segundo Fujitani e Baldisseri (2005), em decorrência da necessidade das alterações hemodinâmicas maternas na gestação, o retorno venoso também eleva-se durante esse período, provavelmente devido ao aumento de 40% no volume sanguíneo. As dimensões das cavidades parecem aumentar principalmente durante o segundo trimestre no momento em que o volume plasmático aumenta. Adicionalmente, a ativação do SRAA, as modificações hormonais também contribuem para o aumento da pré-carga e a vasodilatação para redução da pós-carga durante a gestação, elevando-se desta forma o DC, sendo que essas modificações impactam nos parâmetros ecocardiográficos, refletindo hipertrofia cardíaca excêntrica durante a gestação.

Yadegari et al. (2014) realizaram um estudo visando avaliar os parâmetros ecocardiográficos em 20 ovelhas da raça Lori-Bakhtiari com pesos médios dos animais de 40 kg. Hallowell et al. (2012) encontraram em seu estudo com ovelhas Suffolk valores superiores para os parâmetros ecocardiográficos em relação aos encontrados por Yadegari (2014), sendo o peso médio das ovelhas de 74 kg. Nossos resultados para o SIV e para a PLVE se assemelham aos resultados de Yadegari et al. (2014), porém encontramos valores superiores para o DIVEd e DIVEs. Entretanto, os parâmetros do nosso estudo se assemelham aos encontrados por Hallowell et al. (2012), com exceção do DIVEd que foi superior ao dos referidos autores quando comparamos com os dois meses iniciais da gestação. Assim, ilustramos que a raça em ovelhas e o peso, assim como em cães, influenciam os parâmetros ecocardiográficos e também há

influência do período gestacional nos mesmos, refletindo que essas variáveis devem ser consideradas para avaliação ecocardiográfica em ovelhas havendo necessidade de padronização racial desses parâmetros também nessa espécie.

Em nossos estudos a FE elevou-se com o avançar da gestação, decaindo somente após o parto. Estudos dos índices do modo M tem mostrado que a FE e a taxa média de encurtamento circunferencial da fibra aumentam durante a gestação. Esse aumento ocorre durante os dois primeiros trimestres e parece reduzir durante o terceiro trimestre em mulheres (HALL, GEORGE, GRANGER, 2011). Apesar da ecocardiografia ser a técnica de imagem mais comumente empregada na gestação, o exame apresenta limitações, incluindo a variabilidade do observador na interpretação e a má qualidade da imagem em algumas mulheres. O uso de ressonância magnética cardiovascular na gestação é seguro para a mãe e para o feto e avalia com eficácia superior os volumes do VE.

Além disso, a massa ventricular esquerda, o DC e o volume sistólico são subestimados pela ecocardiografia em comparação com a ressonância magnética cardiovascular. A avaliação por ressonância magnética cardiovascular dos átrios, ventrículo direito e aorta em pacientes gestantes com suspeita de anormalidades cardiovasculares é provavelmente mais precisa do que a ecocardiografia e deve ser considerada caso a caso (DUCAS et al., 2014). Apesar das limitações da técnica ecocardiográfica, em nosso estudo o exame demonstrou-se útil para avaliar as modificações hemodinâmicas que ocorrem na fêmea prenhe, permitindo o acompanhamento materno no período perinatal, o que contribui para uma gestação saudável, pode reduzir os riscos à saúde materna e fetal nesse período e otimizar a lucratividade no setor de animais de produção.

No terceiro e quarto mês de gestação houve aumento do diâmetro do AE materno, sendo que o mesmo reduziu no quinto mês, e após o nascimento o diâmetro foi maior em relação ao último mês gestacional. Embora o DC permaneça relativamente constante na segunda metade da gestação, há um aumento significativo durante o trabalho de parto ativo e imediatamente após o parto. Estudos hemodinâmicos durante a gestação em mulheres demonstraram aumentos no DC, no trabalho do VE e no consumo de oxigênio. O DC é elevado pelo volume sistólico, particularmente nos dois primeiros trimestres. No terceiro trimestre, o DC em mulheres eleva-se apenas minimamente principalmente

devido ao aumento da FC. A pressão venosa central aumenta em pacientes gestantes, apesar do aumento significativo do volume intravascular refletir as reduções nas resistências vasculares sistêmicas e pulmonares. As resistências vasculares reduzidas permitem que tanto a vasculatura sistêmica quanto a pulmonar acomodem maior volume sanguíneo (SOMA-PILLAY et al., 2016).

No presente estudo a avaliação da influência nutricional sobre os parâmetros ecocardiográficos não foi realizada, porém pode ter sido um fator que influenciou nossos resultados, uma vez que, as ovelhas do presente estudo encontravam-se acima do peso no início do estudo, porém durante a gestação houve uma redução na dieta devido ao sobrepeso das mães. Estudos avaliando os efeitos da nutrição nos parâmetros ecocardiográficos e eletrocardiográficos em ovelhas no período gestacional são necessários. El-Sayed et al. (2006), realizaram um estudo visando avaliar os efeitos da nutrição sobre os parâmetros ecocardiográficos em crianças com redução do nível proteico na dieta sendo os grupos divididos em crianças edematosas, não edematosas má-nutridas e grupo controle. O estudo revelou redução do DIVEd em ambos os grupos de pacientes com má-nutrição proteica (MNP) em comparação ao grupo controle, sendo o DIVEd significativo apenas nos pacientes não-edematosos. O estudo evidenciou que crianças com MNP, edematosas ou não edematosas apresentam massa cardíaca significativamente menor em comparação com crianças bem nutridas e, após a reabilitação nutricional, houve um aumento significativo no índice de massa cardíaca, mas ainda foi inferior ao valor de controle.

Ozaki et al. (2000) demonstraram em seu estudo, visando determinar se a subnutrição materna poderia influenciar as respostas agonistas vasoconstritoras e vasodilatadoras nas artérias fetais no final da gestação, que tanto a resposta vasodilatadora dependente do endotélio quanto a independente do endotélio foram atenuadas em fetos tardios de ovelhas expostas à uma redução de 50% na nutrição durante o início da gestação, mas que respostas vasoconstritoras não foram afetadas nesses animais. Os autores concluíram que a restrição alimentar em ovinos no início da gestação leva à redução de respostas vasodilatadoras de pequenas artérias do feto na gestação tardia, onde um componente da programação cardiovascular fetal induzida por restrição dietética pode ocorrer à nível da vasculatura periférica. Assim, enfatizamos a necessidade de estudos visando avaliar a influência nutricional no período gestacional em

ovelhas sobre o sistema cardiovascular fetal e materno, bem como as possíveis respostas cardiovasculares fetais frente à restrição nutricional materna, e ainda, sobre o efeito da dieta e restrição nutricional sobre o eixo hipotálamo-hipófise fetal e materno, uma vez que parâmetros cardiovasculares são coordenados por mecanismos nervosos centrais.

O crescimento fetal reduzido está associado ao aumento no risco de doença cardiovascular na vida adulta em pacientes humanos. A desnutrição materna é um fator que pode alterar o crescimento fetal e o desenvolvimento de órgãos fetais, incluindo o sistema cardiovascular (LANGLEY, JACKSON, 1994). Entretanto, os efeitos da restrição nutricional materna sobre o desenvolvimento cardiovascular fetal são atualmente desconhecidos, porém se o comprometimento da dieta materna não for intenso os mecanismos compensatórios fetais e placentários podem ser adequados e o peso ao nascer não ser reduzido, mas a programação do desenvolvimento cardiovascular fetal pode ser modificada, pois o sistema cardiovascular constitui um componente chave da compensação fetal e essa programação alterada pode persistir no período pós-natal (HAWKINS et al., 2000).

Hawkins et al. (2000) em seu estudo visando avaliar parâmetros fetais durante a restrição dietética encontraram valores inferiores de pressão arterial para fetos com restrição proteica (RP) materna quando comparados ao grupo controle. Segundo os autores, uma vez que a PA fetal é determinada pelo DC e pela RVP alterações em um ou ambos destes parâmetros podem ter ocorrido para produzir a redução da PAM. Os referidos autores acreditam que uma redução na RVP pode ter produzido redução da PA em fetos com RP. Isso pode ocorrer devido ao comprometimento na eficácia dos mecanismos vasoconstritores endógenos ou pelo aumento da eficácia dos vasodilatadores. Esses efeitos podem envolver alterações no número de receptores, alterações nos mecanismos de transdução de sinal ou alterações nas concentrações circulantes de agentes vasoativos. Também os autores demonstraram em outro estudo (HAWKINS et al., 1999) que a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) fetal é reduzida em fetos de ovelhas nutricionalmente restritas. Como os glicocorticoides são conhecidos por produzir um aumento na PAM fetal, a redução da atividade do eixo HHA poderia contribuir para uma redução do tônus vascular e da PAM. Assim, demonstramos em nosso estudo que o

acompanhamento dos parâmetros cardiovasculares da ovelha gestante acarreta em benefícios para a saúde materna, porém o manejo nutricional da fêmea prenhe deve ser também adequado às condições à que a ovelha prenhe está submetida.

Pesquisas sobre a programação dos sistemas endócrinos têm focado principalmente na função do eixo HHA, função do eixo glicose-insulina e recentemente na programação do eixo hipotalâmico-hipofisário-adiposo. No entanto, enfoque reduzido tem sido reportado ao eixo hipotálamo-hipófise-tireóide (HHT) (JOHNSEN et al., 2018), que desempenha um papel fundamental no desenvolvimento e maturação normais, na regulação do metabolismo através da estimulação do consumo de oxigênio mitocondrial, metabolismo de carboidratos e lipídios e no desenvolvimento funcional dos sistemas nervoso e cardiovascular (WRUTNIAK-CABELLO et al., 2001).

Johnsen et al. (2018) realizaram um estudo visando avaliar a influência da nutrição em ovelhas no eixo HHT. Os autores referiram modificações na função reguladora do eixo HHT de acordo com a nutrição no final da gestação, sendo a tireoide um órgão que se desenvolve e assume atividade secretora no início da vida fetal (42-45 dias de gestação em ovelhas). Segundo os autores, as dietas maternas com alto teor de gordura limitaram os receptores do hormônio tireoideano (HT) no tecido fetal e seus reguladores. Essa interferência da função periférica dos HT nos tecidos é importante no metabolismo energético, uma vez que em seus estudos as ovelhas com sobrepeso não aumentaram a sua FC em resposta à estimulação com injeção de tiroxina. Assim, a avaliação das concentrações dos hormônios tireoideanos pode auxiliar na compreensão das modificações que ocorrem no período gestacional.

Em suma, para os parâmetros clínicos maternos durante a gestação houve aumento da FC materna principalmente durante o quinto mês. Para os parâmetros ecocardiográficos a espessura do SIVs e SIVd aumentou durante a gestação. O DIVEs e DIVEd elevaram-se principalmente no início da gestação. Observamos aumento dos índices de VFC maternos RMSSD e PNN50 com o avançar da gestação, evidenciando, provavelmente, aumento da atividade parassimpática conforme a gestação progrediu. O mesmo ocorreu para o índice SDNN na gestação, onde o mesmo ilustra a atividade de ambos os ramos do SNA. Assim, com o avançar do período gestacional há predomínio da atividade

parassimpática em ovelhas. Esse fato pode ser uma tentativa do SNA em manter o equilíbrio das reações que ocorrem durante a gestação, uma vez que uma série de modificações hemodinâmicas e hormonais ocorrem nessa fase e acabam refletindo também na atividade do SNA.

Alfonso et al. (2018) em seu estudo visando avaliar a VFC em éguas 15 e 7 dias pré-parto referiram que os índices de VFC materna não se alteraram neste período, concluindo que a VFC não é um método adequado para ilustrar a proximidade do parto em éguas. Quevedo et al. (2019) em seu estudo com vacas holandesas referiram que houve redução do índice SDNN e da relação LF/HF um dia antes do parto concluindo que há predomínio da atividade simpática em vacas próximo do parto.

O diagnóstico oportuno e manejo bem-sucedido de emergências obstétricas em ovinos e caprinos é fundamental para alcançar altas taxas de sobrevivência na prática de pequenos ruminantes. Embora ovinos e caprinos sejam de diferentes gêneros eles tem uma similaridade fisiológica e reprodutiva. A emergência obstétrica mais comumente observada em pequenos ruminantes é a distocia, a qual acarreta em perdas econômicas devido ao aumento de óbitos perinatais, alta incidência de doenças puerperais e infertilidade em pequenos ruminantes (SHARUN, ERDOĞAN, 2019). Desta forma, enfatiza-se a necessidade de assistência materna próximo ao parto, onde a análise da FCF e da VFC podem ser empregadas para detectar alterações precoces na atividade do SNA devido à eventos distócicos, como por exemplo, angústia fetal, permitindo a realização de manobras obstétricas previamente ao desenvolvimento de alterações que comprometam a saúde do feto e posteriormente, do neonato ovino.

Parâmetros fetais: ecocardiograma e VFC

Em nosso estudo a FCF e os índices de VFC fetal foram registrados com acurácia a partir do quarto mês de gestação. Segundo Nagel et al. (2016a) a atividade cardíaca fetal depende da idade gestacional e, portanto, da maturação do SNA. Com a gestação, a regulação da atividade cardíaca fetal pelo sistema nervoso simpático e parassimpático torna-se cada vez mais complexa. Desta forma, acreditamos que idade gestacional bem como o desenvolvimento do SNA contribuiu para a aquisição de dados com maior acurácia nesse período e em

animais da espécie ovina, semelhante ao que ocorre em humanos a maturidade do SNA ocorre no final da gestação.

Apesar da ausência de diferenças significativas, observamos predomínio da atividade parassimpática fetal no último mês de gestação bem como os menores valores de FCF no quinto mês em relação ao quarto mês podem ser em detrimento da proximidade do parto. Leeuwen et al. (1999) em seu estudo visando analisar o comportamento da FCF encontraram mudanças no comportamento da FCF no decorrer do segundo e terceiro trimestres da gestação em mulheres. Os autores observaram aumento no intervalo RR concomitante à redução da FCF e elevação do índice RMSSD a partir da nona semana de gestação, de 175 bpm para 140 bpm no final da gestação normal. Segundo os autores o índice RMSSD correlaciona-se com a idade gestacional evidenciando que conforme a gestação progride há maior atividade parassimpática em fetos humanos.

Hoyer et al. (2019) em seu estudo visando avaliar o desenvolvimento fetal empregando a VFC encontraram mudanças nos índices de VFC em relação à idade gestacional com um intervalo de transição em torno de 32 semanas de gestação (29 – 35 semanas). Segundo os autores, do ponto de vista fisiológico mudanças da formação predominante e crescimento de estruturas complexas vagais e simpáticas antes de 32 semanas de gestação para o aumento de padrões comportamentais do organismo complexo desenvolvido principalmente após 32 semanas indica uma transição de fase e parece haver mudanças na VFC devido à fatores de estilo de vida materno (exercício físico – maior VFC, tabagismo – menor VFC, suplementação de nutrientes (DHA – ácido docosa-hexaenóico – maior VFC). DAVID et al. (2007), avaliaram a VFC fetal em diferentes grupos de idade gestacional (G1 = 23 semanas de gestação, G2 = 32 semanas, G3 = 39 semanas) e referiram que o componente LF da VFC fetal foi maior no G1 e o componente HF foi maior no G2 e G3 onde o componente HF elevou-se conforme a gestação progrediu demonstrando maior atividade vagal fetal nesse período.

A avaliação da VFC fetal do segundo e terceiro mês de gestação em nosso estudo foi comprometida devido à quantidade de artefatos que encontramos na espécie ovina o que pode ser devido à gordura corporal materna, sendo a raça Dorper considerada de corte. Porém, o método utilizado para análise também

pode ter contribuído para tais artefatos, uma vez que o sistema Televet é empregado principalmente para avaliação em animais da espécie equina.

Trenk et al. (2015) em seus estudos com bovinos referiram que apenas 50% do tempo de gravação de 60 minutos em vacas forneceu um sinal constante que permitiu a avaliação da FC fetal e da VFC e que esse tempo aumentou para 60% em novilhas. Os autores acreditam que esse fato pode ser devido ao menor tamanho da mãe e melhor acesso ao feto e que embora a eletrocardiografia feto-materna consistentemente permitisse a detecção de sinais cardíacos em fetos bovinos ao final da gestação, a técnica foi menos confiável do que em equinos. Assim, para os índices de VFC fetal em ovelhas a maturidade do SNA, bem como a raça, o escore corporal, a idade materna e o método empregado para análise devem ser considerados.

Em equinos o ECG fetal transcutâneo pode ser empregado para avaliar a viabilidade fetal em éguas prenhes após 150 dias de gestação (BUSS et al., 1980). Assim como em equinos, acreditamos que em ovelhas há períodos da gestação que favorecem a aquisição de dados fetais. No presente estudo não avaliamos os índices de VFC fetal em momentos próximos do parto, o que poderia auxiliar em melhor elucidação do comportamento da FCF em dias prévios aos parto.

Frasch et al. (2009) em seus estudos com fetos ovinos visando avaliar efeitos vagais e simpáticos na VFC mostraram que as mudanças na complexidade da VFC fetal possuem padrões específicos para a modulação vagal e simpática de propriedades lineares ou não lineares e não podem ser detectadas estudando as propriedades gerais de complexidade da VFC fetal. Os autores referem que estimativas da complexidade global de VFC fetal não reflete totalmente a interação complexa de modulações lineares e não-lineares da mesma pela atividade do SNA. Assim, nossos resultados de VFC fetal podem estar sob influência da complexidade da atividade de ambos os ramos do SNA e a aplicação de métodos distintos de avaliação da VFC pode contribuir em maior magnitude para compreensão do comportamento da atividade do SNA em animais da espécie ovina.

Quando analisamos os parâmetros obtidos no ecocardiograma fetal houve diferença apenas quanto ao diâmetro do VE que foi maior no quinto mês de gestação, sendo que a partir do terceiro mês de gestação é que foi possível

avaliar o coração fetal, porém com a qualidade da imagem superior no último mês de gestação. Em humanos os batimentos cardíacos fetais podem ser visualizados pela ecocardiografia bidimensional a partir da 6ª semana de gestação, porém uma análise estrutural adequada geralmente só é realizada a partir da 16ª semana. Nesse período gestacional o coração fetal é ainda muito pequeno e, muitas vezes, não é possível um estudo completo (GARDINER, 2001).

As avaliações fetais se iniciaram a partir do segundo mês gestacional, porém nesse período não foi possível a mensuração das câmaras cardíacas em virtude do pequeno tamanho das mesmas bem como do comprometimento da visualização devido à sobreposição e artefatos para a aquisição das imagens. A avaliação fetal em humanos também apresenta períodos de melhor aquisição de imagens, pois artefatos que causam sombreamento à área cardíaca também ocorrem. Já no 3º trimestre a coluna vertebral fetal é frequentemente anterior e as costelas são mais calcificadas “sombreamento” a área cardíaca e podendo dificultar a adequada avaliação do coração fetal nesta fase gestacional.

Em nossa avaliação ecocardiográfica fetal no segundo mês de gestação em ovelhas as estruturas de tamanhos relativamente pequenos comprometeu a acuidade das mensurações, em decorrência desse fato optamos por iniciar as mensurações no terceiro mês. Porém, com o avançar da gestação observamos que apesar do maior tamanho cardíaco ainda podem haver artefatos. Acreditamos que esse fato possa ser devido à movimentação fetal que foi mais acentuada com a agitação das mães à manipulação. De acordo com Drose (2001), em humanos com 18 semanas o coração fetal é de tamanho consideravelmente reduzido e antes desse período estruturas cardíacas podem ser pequenas demais para serem avaliadas com acuidade. Segundo Lopes (2016) em um período mais avançado da gestação em humanos a avaliação ecocardiográfica pode ficar comprometida por uma atenuação aumentada oriunda do crânio fetal, costelas, coluna e dos membros, bem como, por uma redução do líquido amniótico à medida que a gestação avança. As cavidades cardíacas aumentam três a quatro vezes de tamanho da 17ª semana ao término da gestação revelando um padrão linear de crescimento em relação à idade gestacional e ao diâmetro. A relação entre as dimensões do VE e VD é próxima de um (variando entre 0,96 e 1,18 cm) e mostra-se constante durante a gestação.

Em nosso estudo os tamanho do VD e do VE foram, assim como em humanos, aproximados entre os dois ventrículos e próximo de um.

Além dos artefatos que podem comprometer a visualização cardíaca fetal a experiência do observador deve ser considerada para a aquisição de mensurações cardíacas fetais bem como as limitações do trabalho a campo, o que pode dificultar a qualidade da imagem e as mensurações. Porém a análise qualitativa permite a identificação de câmaras e pode auxiliar na suspeita de alterações congênitas através da visualização de tamanhos e localizações anormais de câmaras e valvas cardíacas. Segundo Kim et al. (1992) a forma estrutural do coração humano adulto é finalizada entre a quarta e a sétima semana de gestação e posteriormente o coração aumenta constantemente as suas dimensões. Em seu estudo visando avaliar a estrutura do coração fetal fixando-os em formalina os autores referiram que não houve diferença significativa entre as áreas transversais do VE e VD, porém houve aumento das áreas e da espessura das paredes ventriculares com o avançar da idade fetal e que quando avaliou-se a relação da espessura da parede ventricular esquerda com a direita as mesmas foram constantes durante a vida fetal. Rudolph e Heymann (1970) em seu estudo avaliando a circulação fetal em cordeiros referiram que nessa espécie o VD é predominante na vida fetal.

Também a avaliação da FCF pode ser realizada pela ultrassonografia abdominal empregando-se o método Doppler, porém no presente estudo não realizamos essa avaliação, o que poderia contribuir para avaliar o comportamento da FCF bem como o desenvolvimento do SNA na espécie ovina. Estudos empregando a avaliação cardíaca fetal pelo método ultrassonográfico empregando mensurações cardíacas, o método Doppler e correlacionando esses resultados com a análise da VFC são necessários e podem contribuir em maior magnitude para compreensão da atividade do SNA em fetos ovinos.

VFC em cordeiros

Para os índices de VFC no domínio do tempo analisados nos cordeiros nos períodos etários, a FC mínima, média e máxima reduziram a partir de 21 dias, bem como a duração dos intervalos RR prolongou-se a partir desse período, fato que nos leva a acreditar haver um equilíbrio a partir desse momento dos ramos do SNA em cordeiros. Porém aos 60 dias a FC elevou-se novamente.

Acreditamos que esse fato possa ter ocorrido devido à manipulação dos animais, uma vez que conforme os cordeiros se desenvolviam a manipulação limitava-se, pois, os mesmos demonstravam-se resistentes.

Segundo Fyfe et al. (2014), o ramo simpático parece se desenvolver mais rapidamente durante o primeiro trimestre da gestação em humanos, enquanto o controle parassimpático se torna dominante posteriormente, no desenvolvimento fetal durante 25 e 30 semanas de idade. A idade pós-natal também tem uma influência considerável no controle cardiovascular do SNA com uma redução significativa da FC durante os primeiros meses de vida, devido ao aumento do estímulo parassimpático. A termo, o controle autonômico ainda não está totalmente maduro e as alterações no equilíbrio simpato-vagal continuam durante toda a infância até pelo menos seis meses de idade.

Os índices de VFC SDNN e RMSSD apresentaram oscilações durante o desenvolvimento elevando-se e reduzindo-se a cada período avaliado. Uma vez que o índice SDNN ilustra a atividade de ambos os ramos do SNA e o índice RMSSD ilustra a atividade parassimpática acreditamos que essas oscilações sejam devido ao desenvolvimento dos dois ramos do SNA. Segundo Fyfe et al. (2014), o desenvolvimento do SNA inicia-se na vida fetal no primeiro trimestre da gestação, sendo que nesse período ocorre principalmente desenvolvimento do SNA simpático. No final da gestação há maior desenvolvimento do SNA parassimpático o qual se desenvolve de forma rápida, porém em humanos, o controle autonômico é imaturo até os seis meses de idade. Isso também reflete em bebês que nascem prematuros, os quais tem maior risco de desenvolvimento de alterações cardiovasculares na vida adulta e apresentaram valores superiores de FC e PA, os quais reduzem aos sete meses de idade, refletindo que devido ao nascimento prematuro, o desenvolvimento do SNA parassimpático também foi comprometido, e a melhora aos sete meses reflete a maturação desse ramo do SNA. Assim, acreditamos que as oscilações verificadas nos índices de VFC sejam em detrimento da progressão da maturidade do SNA.

Os índices de VFC no domínio da frequência LF e HF normalizados bem como a relação LF/HF diferiram entre os momentos. A partir de 21 dias o índice LF reduziu e opostamente o índice HF elevou-se. Esse fato ilustra que a atividade simpática (LF) prevalece dominante até esse período, onde a partir desse momento o SNA parassimpático passou a demonstrar maior atuação

visando atingir um equilíbrio autonômico nessa faixa etária, fato também ilustrado na relação LF/HF, que inicialmente é elevada evidenciando predomínio simpático e partir de 21 dias reduzindo.

Segundo Gasior et al. (2018) a normalização dos índices de VFC (n.u.) remove a dependência matemática e fisiológica da VFC em relação à FC baseando-se em uma média da FC, ou seja, como a VFC é dependente da FC devido à razões fisiológicas (influência do SNA) e matemáticas (relações não lineares inversas entre FC e intervalo RR) para investigar a variabilidade “objetiva” deve-se extinguir o impacto da FC na VFC, o que é alcançado aplicando o método de correção utilizando-se unidades normalizadas (SACHA, PLUTA, 2008). Em condições fisiológicas a excitação simpática que leva à taquicardia é acompanhada por uma redução na potência total e no desvio-padrão da VFC. Durante a atividade vagal, o inverso é verdadeiro (aumento no desvio-padrão da VFC) (MALLIANI, LOMBARDI, PAGANI, 1994).

Existem controversas entre pesquisadores em relação ao componente LF. Alguns estudos sugerem que o LF, quando expresso em unidades normalizadas, é um marcador quantitativo para modulações simpáticas, outros estudos referem que o índice ilustra tanto a atividade simpática quanto vagal. Consequentemente, a proporção LF/HF é considerada por alguns investigadores para espelhar o equilíbrio simpático/vagal ou para refletir modulações simpáticas. A interpretação fisiológica dos componentes de baixa frequência da VFC (ou seja, dos componentes VLF e ULF) necessita de uma maior elucidação. É importante notar que a VFC mensura as flutuações das inervações autonômicas no coração, em vez de uma média das influências autonômicas. Assim, tanto a remoção autonômica quanto um nível saturantemente alto de estímulo simpático levam à redução da VFC (TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AND THE NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING AND ELECTROPHYSIOLOGY, 1996).

Em nosso estudo não avaliamos os índices de VFC bem como a FC em relação ao ritmo circadiano mas acreditamos haver uma influência desse ritmo nas oscilações encontradas para VFC e FC, uma vez que Kovács et al. (2016) em seu estudo com animais da espécie bovina avaliando o comportamento dos índices de VFC nos períodos diurnos e noturnos referiram haver predominância da atividade simpática durante períodos ativos (diurno) e também no verão. De

acordo com os autores o índice HF mostrou um declínio gradual de 1:00 até 8:00 horas da manhã. Durante o dia foi equilibrado, mas mostrou um padrão de oscilação entre as 11:00 e as 20:00 horas e depois aumentou rapidamente até à meia-noite.

Assim, em nosso estudo os cordeiros foram avaliados somente no verão e durante o período diurno, então, de acordo com as afirmações dos referidos autores acreditamos que a avaliação dos animais no verão (temperatura elevada) e durante o período diurno influenciaram nossos resultados, com exceção dos resultados obtidos 24 horas após o parto onde os animais foram avaliados tanto no período diurno quanto noturno, conforme as mães pariam; os valores de todos os parâmetros estudados neste trabalho no período de 24 horas também estão sob influência do ritmo circadiano.

A prematuridade extrema é considerada uma das principais causas de morbidade e mortalidade infantil com mais de um terço da mortalidade e metade dos casos de paralisia cerebral sendo atribuída à prematuridade. Os avanços na terapia intensiva neonatal otimizaram a sobrevida e aumentaram os limites de viabilidade para 22 a 23 semanas de gestação. No entanto, a sobrevida foi alcançada associada com altas taxas de doença pulmonar crônica e outras complicações de imaturidade de órgãos, particularmente em crianças nascidas antes de 28 semanas (COALSON, 2003). A insuficiência respiratória representa um problema comum e desafiador pois a troca gasosa em recém-nascidos pré-termo é prejudicada pela imaturidade estrutural e funcional dos pulmões. Essa condição, conhecida como displasia broncopulmonar é relacionada à uma parada no desenvolvimento pulmonar secundária à transição prematura de líquido para ventilação gasosa, explicando por que mesmo os modos minimamente invasivos de ventilação neonatal não reduziram a incidência de displasia broncopulmonar. Há uma necessidade de uma abordagem fisiológica para apoiar o prematuro extremo (GREENOUGH, 2012).

Partridge et al. (2017) desenvolveram uma placenta artificial visando dar continuidade ao desenvolvimento fetal extra-uterino estendendo-se a gestação utilizando-se de sistemas extracorpóreos, uma vez que o sucesso neste âmbito até então era limitado. Os autores desenvolveram um sistema que incorporou um circuito oxigenador conectado ao feto de cordeiro através de uma interface do cordão umbilical que é mantida dentro de um circuito artificial semelhante ao

‘líquido amniótico’, que reproduz o ambiente uterino, e demonstraram que o desenvolvimento fetal em cordeiros é equivalente ao desenvolvimento do feto prematuro humano e que cordeiros podem ser fisiologicamente apoiados neste dispositivo extra-uterino por até quatro semanas.

Os autores também ilustraram a semelhança do feto ovino ao humano e conseguiram reproduzir o desenvolvimento fetal em uma placenta artificial, contribuindo significativamente para os avanços em pesquisas que possam suportar melhorias no desenvolvimento de bebês prematuros, bem como pesquisas em neonatologia, otimizando o atendimento também na pediatria. Assim de acordo com o ilustrado pelos referidos autores, bem como os achados do nosso estudo, o emprego da espécie ovina em pesquisas translacionais contribui significativamente para avanços no diagnóstico e tratamento de afecções que acometem o indivíduo tanto durante a vida fetal, quanto neonatal, o que proporciona intervenção no momento adequado para que a higidez fetal e neonatal não seja comprometida. Também o acompanhamento dos cordeiros durante o desenvolvimento reduz os riscos de óbito e contribui para redução no prejuízo econômico, principalmente quando o método empregado caracteriza-se pela IATF onde os custos são superiores em relação à concepção natural, uma vez que nessa fase devido às necessidades de adaptações da vida fetal para neonatal os animais ficam mais susceptíveis à afecções.

Um em cada dez bebês nascidos nos Estados Unidos a cada ano é prematuro, e 5% desses são considerados recém-nascidos com idade gestacional extremamente baixa, definidos como neonatos com idade gestacional estimada ≤ 28 semanas. Morbidade e mortalidade são inaceitavelmente altas nessa população, com sobrevida abaixo de 50% para crianças nascidas antes de 24 semanas. As taxas de morbidade nesses pacientes surgem da imaturidade de múltiplos sistemas orgânicos. Uma alternativa para solucionar e reduzir a alta taxa de mortalidade é o desenvolvimento de placentas artificiais (CHURCH et al., 2018).

Estudos tem sido realizados (LAWN, MCCANCE, 1962; ZAPOL et al., 1969; BRYNER et al., 2015; PARTRIDGE et al., 2017; CHURCH et al., 2018) e vêm destacando-se na cirurgia pediátrica visando reduzir as altas taxas de morbidade e mortalidade fetal e neonatal e reduzir o número de nascimentos de bebês prematuros, empregando o desenvolvimento fetal em placentas artificiais. De

acordo com Church et al. (2018), a idade gestacional de 118 dias em ovelhas é análoga ao desenvolvimento pulmonar de um feto humano de 24 semanas. Assim, o emprego de modelos ovinos em pesquisas voltadas para a neonatologia e pediatria humana pode contribuir para reduzir a taxa de mortalidade neonatal e pediátrica por afecções congênitas bem como reduzir o número de nascimentos de bebês prematuros.

As taxas de mortalidade materna também são consideradas elevadas sendo umas das possíveis causas associada à esse fato as cardiopatias desenvolvidas em detrimento da gestação. A doença cardíaca representa a principal causa geral de morte materna e está aumentando constantemente. Trombose e tromboembolismo constituem as formas predominante da doença. Em comparação, a morbidade e mortalidade associadas à cardiomiopatia periparto permanece desconhecida devido ao baixo índice de suspeita e reconhecimento tardio. Pesquisas são necessárias para elucidar os mecanismos fisiopatológicos que sustentam as cardiopatias periparto. Uma predisposição genética foi documentada, onde uma associação com o gene do hormônio semelhante ao hormônio da paratireoide, que modula a homeostase vascular através do estímulo do canal de cálcio, foi documentada. Além disso, o gene TTN que codifica a proteína sarcomérica titina também foi implicado na patogênese. Uma nova hipótese refere-se à produção excessiva de prolactina, que está associada à volumes intravasculares elevados, resposta suprimida à angiotensina e aumento dos níveis circulantes de eritropoietina. É evidente que o volume intravascular e a massa de eritrócitos elevam-se com um aumento concomitante na pré-carga e no DC pelo do mecanismo de Frank-Starling. Tem sido postulado que essas adaptações fisiológicas também podem estar implícitas no fenótipo cardiomiopático. No entanto, essas alterações geralmente ocorrem durante o primeiro e segundo trimestres e não no período periparto (PATEL et al., 2017).

Também, não só para a medicina experimental e na área da saúde, as pesquisas com animais de produção otimizam e podem ser um diferencial em questões judiciais, uma vez que um laudo médico de cardiopatia congênita com necessidade emergencial de intervenção pode ser crucial para uma determinação da justiça de transferência de pacientes para hospitais que atendam as necessidades de infraestrutura para a cirurgia cardíaca, o que, poderia ser evitado precocemente ao desenvolvimento de sinais clínicos do

bebê, onde o diagnóstico é essencial para uma intervenção precoce, porém para que o mesmo seja possível ainda são necessários estudos para acompanhamento do desenvolvimento dos sistemas orgânicos, onde a partir deste ponto, conhecendo-se o que seria previsto nas determinadas fases do desenvolvimento, quando não o ocorrer, a intervenção e correção deve ser preconizada.

Assim, suportamos em nosso trabalho a necessidade de acompanhamento materno, fetal e do neonato visando reduzir perdas nesses períodos e consequentemente os impactos que as mesmas poderiam acarretar tanto no âmbito da medicina pediátrica quanto em sistemas agropecuários que visam a criação de ovinos, uma vez que a produção de ovinos é amplamente distribuída em todo o Brasil, sendo as duas principais áreas as regiões Nordeste e Sul, porém com aumento na criação da espécie em todas as regiões do país (RIBEIRO, GONZÁLEZ-GARCÍA, 2016).

Algumas limitações são atribuídas ao presente estudo. O tamanho relativamente pequeno da amostra de 10 animais pode ter influenciado nossos resultados, principalmente no que se refere à dados não significativos. A camada de gordura materna, camada muscular materna, contrações uterinas podem ter limitado à aquisição de dados e contribuído para artefatos. O temperamento em ovelhas da raça Dorper pode ter contribuído para valores elevados de PA e FC, bem como para movimentação fetal excessiva. A execução dos exames a campo concentra-se em uma limitação real, onde preconiza-se para realização de exames de imagem ambientes com restrição de luz. A avaliação ultrassonográfica fetal foi realizada apenas empregando-se as mensurações das câmaras cardíacas, porém a avaliação de batimentos cardíacos fetais empregando-se o método Doppler poderia auxiliar para avaliar o comportamento da FCF e da atividade do SNA, o que não foi realizado no presente estudo. Também os partos ocorreram em períodos distintos do dia, diurnos e noturnos, o que também deve ser considerado para avaliação de dados. O tamanho fetal relativamente elevado também pode ter exacerbado alguns resultados, onde algumas fêmeas apresentaram partos distócicos. No presente estudo empregou-se para análise da VFC fetal apenas métodos lineares, porém métodos não-lineares também poderiam ser empregados para tal análise e estudos comparando ambos os métodos poderiam demonstrar a atividade do SNA com maior complexidade.

Também as análises ecocardiográficas foram realizadas por métodos simples, porém análises empregando modalidades mais avançadas de ecocardiografia poderiam contribuir com maior magnitude para a avaliação do impacto hemodinâmico que a gestação acarreta para a fêmea prenhe.

5. CONCLUSÕES

- Na gestação em ovelhas as alterações hemodinâmicas ocorrem e refletem nos parâmetros clínicos e ecocardiográficos, havendo aumento da FC materna, do DIVE e maior atividade parassimpática neste período. Assim, há necessidade de acompanhamento materno no período perinatal, o que pode contribuir para reduzir o índice de morbidade e mortalidade materna em animais da espécie ovina e dos seus descendentes.

- A atividade simpática e parassimpática podem ser avaliadas durante a fase fetal em ovinos parecendo haver interações entre ambos os ramos já na vida fetal, porém a partir de 21 dias em cordeiros, a maturidade do SNA parece iniciar um equilíbrio. Pesquisas envolvendo métodos distintos lineares e não lineares de avaliação da VFC são necessárias para uma avaliação minuciosa da atividade do SNA, uma vez que, ainda há controversas sobre o comportamento do SNA na vida fetal e durante a gestação, bem como há necessidade controle de fatores que possam interferir na análise.

- A VFC pode ser empregada na espécie ovina para avaliação da atividade do SNA, bem como para avaliação da higidez fetal, neonatal e materna, uma vez que a gestação acarreta em modificações na atividade do SNA. Além da gestação, durante o desenvolvimento essas modificações ocorrem, sendo a VFC um método que pode contribuir significativamente no acompanhamento da gestação em animais de produção.

- O desenvolvimento cardíaco fetal ovino possui similaridades ao coração humano. Devido à esse fato, ovinos podem ser empregados em pesquisas translacionais e contribuir, também, neste âmbito para pesquisas durante o período gestacional em mulheres, uma vez que neste período o desenvolvimento de cardiopatias, já denominadas cardiopatias da gestação, pode colocar em risco a saúde materna e fetal.

- A raça e o peso corporal devem ser considerados para aquisição de dados também na espécie ovina, uma vez que raças categorizadas para corte apresentam maior gordural corporal, fato que interfere na aquisição de dados e pode contribuir para resultados.

6. REFERÊNCIAS

ÅHS, F.; SOLLERS; FURMARK, T.; FREDRIKSON, M.; THAYER, J.F. High-frequency heart rate variability and cortico-striatal activity in men and women with social phobia. *Neuroimage*. v.47, p.815-820, 2009.

ALFONSO, A.; CRUZ, R.K.S.; QUEVEDO, D.A.C.; PADOVANI, C.R.; GONÇALVES, R.C.; CHIACCHIO, S.B.; LOURENÇO, M.L.G. Avaliação da frequência cardíaca materna, fetal e neonatal e sua variabilidade em equinos da raça Paint Horse. *Pesq. Vet. Bras*. v.38, p.551-557, 2018.

ALMEIDA, V.T.; USCATEGUI, R.A.R.; da SILVA, P.A.; AVANTE, M.L.; SIMÕES, A.P.R.; VICENTE, W.R.R. Hemodynamic gestational adaptation in bitches. *Cienc. Rural*. v.4, n.7, p.1-6, 2017.

ALAN, T.; CHOUDHARY, A.K.; KUMARAN, S. Maternal heart rate variability during different trimesters of pregnancy. *Natl. J. Physiol. Pharm*. v.8, p.1475-1480, 2018.

BERNTSON, G.G.; NORMAN, G.J.; HAWKLEY, L.C.; CACIOPPO, J.T. Cardiac autonomic balance versus cardiac regulatory capacity. *Int. J. Psychophysiol*. v.45, p.643-52, 2008.

BOON, J.A. The two-dimensional echocardiographic exam. In: BOON, J.A. *Veterinary Echocardiography*. 2nd ed. USA: Wiley-Blackwell, 2011.

BORESTEIN, N.; BRUNEVAL, N.; BEHR, L.; LABORDE, F.; MONTARRAS, D.; DAIRÈS, H.P.; DERUMEAUX, G.; POUCHELON, J.L.; CHETBOUL, V. An ovine model of Chronic Heart Failure: Echocardiographic and Tissue Doppler Imaging Characterization. *J. Card. Surg*. v.21, p.50-56, 2006.

BORREL, E.V.; LANGBEIN, J.; DESPRÉS, G.; HANSEN, S.; LETERRIER, C.; FORDE, J.M.; FORDE, R.M.; MINERO, M.; MOHR, E.; PRUNIER, A.; VALANCE, D.; VEISSIER, I. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals — A review. *Physiol. Behav*. v.92, p.293-316, 2007.

BRYNER, B.; GRAY, B.; PERKINS, E.; DAVIS, R. HOFFMAN, H.; BARKS, J.; OWENS, G.; BOCKS, M.; ROJAS-PEÑA, A.; HIRSCHL, R.; BARTLETT, R.; MYCHALISKA, G. An extracorporeal artificial placenta supports extremely premature lambs for 1 week. *J. Pediatr. Surg*. v.50, p.44-49, 2015.

BUSS, D.D.; ASBURY, A.C.; CHEVALIER, L. Limitations in equine fetal electrocardiography. *J. Am. Vet. Cred. Assoc.*, v.177, p.174-176, 1980.

BUTLER, E.A.; WILHELM, F.H.; GROSS, J.J. Respiratory sinus arrhythmia, emotion, and emotion regulation during social interaction. *Int. J. Psychophysiol.* v.43, p.612-622, 2006.

CARDOSO, S.; SILVA, M.J.; GUIMARÃES, H. Autonomic nervous system in newborns: a review based on heart rate variability. *Childs Nerv. Syst.* v.33, p.1053–1063, 2017.

CARPENTER, R.E.; da SILVA, L.A.; EMERY, S.J.; UZUN, O.; RASSI, D.; LEXWIS, M.J. Changes in heart rate variability and QT variability during the first trimester of pregnancy. *Physiol. Meas.* v.36, p.531–545, 2015.

CASTILHO, F.M.; RIBEIRO, A.L.P.; DA SILVA, J.L.P.; NOBRE, V.; de SOUSA, M.R. Heart rate variability as predictor of mortality in sepsis: A prospective cohort study. *Plos One.* v.12, p.1-15, 2017.

CHURCH, J.T.; COUGHLIN, M.A.; PERKINS, E.M.; HOFFMAN, H.R.; BARKS, J.D.; RABAH, R. J.; BENTLEY, J.K.; HERSHENSON, M.B.; BARTLETT, R.H.; MYCHALISKA, G.B. The artificial placenta: Continued lung development during extracorporeal support in a preterm lamb model. *J. Pediatr. Surg.* v.53, p.1896-1903, 2018.

COALSON, J. J. Pathology of new bronchopulmonary dysplasia. *Semin. Neonatol.* v.8, p.73-81, 2003.

CRUZ-ALEIXO, A.S. *Estudo retrospectivo e prospectivo da relação alométrica entre frequência cardíaca, parâmetros eletrocardiográficos e peso corporal em cães.* 2016. 111f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.

DAVID, M.; HIRSCH, M.; KARIN, J.; TOLEDO, E.; AKSELROD, S. An estimate of fetal autonomic state by time-frequency analysis of fetal heart rate variability. *J. Appl. Physiol.* v.102, p.1057-1064, 2007.

DUCAS, R.A.; ELLIOTT, J.E.; MELNYK, S.F.; PREMECZ, S.; DASILVA, M.; CLEVERLEY, K.; WTOREK, P.; MACKENZIE, G.S.; HELEWA, M.E.; JASSAL, D.S. Cardiovascular magnetic resonance in pregnancy: insights from the Cardiac Hemodynamic Imaging and Remodeling in Pregnancy (CHIRP) study. *J. Cardiovasc. Magn. Reson.* v.16, p.1-9, 2014.

EIPPERT, F.; VEIT, R.; WEISKOPF, N.; ERB, M.; BIRBAUMER, N.; ANDERS, S. Regulation of emotional responses elicited by threat-related stimuli. *Hum. Brain Mapp.* v.28, p.409-423, 2007.

EL-SAYED, H.L.; NASSAR, M.; HABIB, N.M.; ELMASRY, O.A.; GOMAA, S.M. Structural and functional affection of the heart in protein energy malnutrition patients on admission and after nutritional recovery. *Eur. J. Clin. Nutr.* v.60, p.502-510.

FARCHE, A.C.S.; JÜRGENSEN, S.P.; ROSSI, P.C.; TAKAHASHI, A.C.M.; BORGHI-SILVA, A. Respiração lenta e profunda aumenta a modulação vagal em gestantes. *Sci. Med.* v.27, p.1-7, 2017.

FEITOSA, F.L.F. *Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico*. 3ed. São Paulo: ROCA, 2014.

FRASCH, M.G.; MULLER, T.; HOYER, D.; WEISS, C.; SCHUBERT, H.; SCHWAB, M. Nonlinear properties of vagal and sympathetic modulations of heart rate variability in ovine fetus near term. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* v.296, p.R702-R707, 2009.

FUJITANI, S.; BALDISSERI, M.R. Hemodynamic assessment in a pregnant and peripartum patient. *Crit. Care Med.* v.33, p. S354-S361, 2005.

FYFE, K.L.; YIALLOUROU, S.R.; WONG, F.Y.; HORNE, R.S.C. The development of cardiovascular and cerebral vascular control in preterm infants. *Sleep Med. Rev.* v.18, p.299-310, 2014.

GARDINER, H.M. Fetal echocardiography: 20 years of progress. *Heart.* v.86, p.12-22, 2001.

GASIOR, J.S.; SACHA, J.; PAWŁOWSKI, M.; ZIELINSKI, J.; JELEN, P.J.; TOMIK, A.; KSIAZCZYK, T.M.; WERNER, B.; DABROWSKI, M.J. Normative Values for Heart Rate Variability Parameters in School-Aged Children: Simple Approach Considering Differences in Average Heart Rate. *Front. Physiol.* v.9, p.1-12, 2018.

GUIMARÃES, T.; MAGALHÃES, A.; VEIGA, A.; FIUZAA, M.; ÁVILA, W.; PINTO, F.J. Cardiopatia e gravidez - o estado da arte. *Rev. Port. Cardiol.* v.38, p.373-383, 2019.

GRASSI, G. Role of the sympathetic nervous system in human hypertension. *J. Hypertens.* v.16, p.1979-1987, 1998.

GREENOUGH, A. Long term respiratory outcomes of very premature birth (o32 weeks). *Semin. Fetal Neonatal Med.* v.17, p.73-76, 2012.

HAAS, S.; GHOSSEIN-DOHA, C.; VANKUIJK, S.M.J.; VANDRONGELEN, J. 2017. Physiological adaptation of maternal plasma volume during pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 49, 177–187.

HALL, M.; GEORGE, E.; GRANGER, J. The Heart During Pregnancy. *Rev. Esp. Cardiol.* v.64, p.1045-1050, 2011.

HALLOWELL, G.D.; POTTER, T.J.; BOWEN, I.M. Reliability of quantitative echocardiography in adult sheep and goats. *BMC Vet. Res.* v.181, p.1-11, 2012.

HAWKINS, P.; CROWE, C.; CALDER, N.A.; SAITO, T.; OZAKI, T.; STRATFORD, L.L.; NOAKES, D.E.; HANSON, M.A. Cardiovascular development in late gestation fetal sheep and young lambs following modest maternal nutrient restriction in early gestation. *Reprod. Fertil. Dev.* v.12, p.443-456, 1999.

HAWKINS, P.; STEYN, C.; OZAKI, T.; SAITO, T.; NOAKES, D.E.; HANSON, M.A. Effect of maternal undernutrition in early gestation on ovine fetal blood pressure and cardiovascular reflexes. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* v.279, p.R340-R348, 2000.

HOSHI, R.A.; PASTRE, C.M.; VANDERLEI, L.C.M.; GODOY, M.F. Poincaré plot indexes of heart rate variability: Relationships with other nonlinear variables. *Auton. Neurosci.* v.177, p.271-274, 2013.

HOYER, D.; SCHMIDT, A.; GUSTAFSON, K.M.; LOBMAIER, S.M.; LAKHNO, I.; LEEUWEN, P.; CYSARZ, D.; PREISL, H.; SCHNEIDER, U. Heart rate variability categories of fluctuation amplitude and complexity: diagnostic markers of fetal development and its disturbances. *Physiol. Meas.* v.40, p.1-13, 2019.

HUMPHRIES, A.; MIRJALILI, S.A.; TARR, G.P.; THOMPSON, J.M.D. The effect of supine positioning on maternal hemodynamics during late pregnancy. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* p.1-8, 2018.

HUANG, Y.; HUNYOR, S.N.; JIANG, L.; KAWAGUCHI, O.; SHIROTA, K.; IKEDA Y.; YUASA, T.; GALLAGHER, G.; ZENG, B.; ZHENG, X. Remodeling of the chronic severely failing ischemic sheep heart after coronary microembolization: functional, energetic, structural, and cellular responses. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* v.286, p.H2141-250, 2004.

HUNTER, S.; ROBSON, S.C. Adaptation of the maternal heart in pregnancy. *Br. Heart J.* v.68, p.540-543, 1992.

JANCZAREK, I.; STACHURSKA, A.; WILK, I.; KRAKOWSKI, L.; PRZETACZNIK, M.; ZASTRZEZYNSKA, M.; KUNA-BRONIOWSKA, I. Emotional excitability and behaviour of horses in response to stroking various regions of the body. *Anim. Sci. J.* v.89, p.1599-1608, 2018.

JOHNSEN, L.; LYCKEGAARD, N.B.; KHANAL, P.; QUISTORFF, B.; RAUN, K.; NIELSEN, M.O. Fetal over- and undernutrition differentially program thyroid axis adaptability in adult sheep. *Endocr. Connect.* v.7, p.777–790, 2018.

JONCKHEERE, J.; GARABEDIAN, C.; CHARLIER, P.; CHAMPION, C.; SERVAN-SCHREIBER, E.; STORME, L.; DEBARGE, V.; JEANNE, M.; LOGIER, R. Influence of ECG sampling rate in fetal heart rate variability analysis. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* p.2027-2030, 2017.

JOUSSET, F.; TENKORANG, J.; JEAN-MARC VESIN, J.M.; PASCALE, P.; RUCHAT, P.; ROLLIN, A.G.; FROMER, M.; SANJIV, M.; PRUVOT, E. Kinetics of atrial repolarization alternans in a free-behaving ovine model. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* v.23, p.1003-1012, 2012.

KAISER, J.T.; LUGO-PICO, J.G. Neuroanatomy, Spinal Nerves. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542218/>. Acesso em: 15/06/2019.

KIM, H.; KIM, D.; LEE, I.; RAH, B.; SAWA, Y.; SCHAPER, J. Human Fetal Heart Development after Mid-term: Morphometry and Ultrastructural Study. *J. Mot. Cell. Cardiol.* v.24, p.949-965, 1992.

KOVÁCS, L.; KÉZÉR, F.L.; RUFF, F.; SZENCI, O. Cardiac autonomic activity has a circadian rhythm in summer but not in winter in non-lactating pregnant dairy cows. *Physiol. Behav.* v.155, p.56-65, 2016.

KUO, C.D.; CHEN, G.Y.; YANG, M.J.; TSAI, Y.S. The effect of position on autonomic nervous activity in late pregnancy. *Anaesthesia.* v.52, p.1161-1165, 1997.

LANGLEY, S.C.; JACKSON, A.A. Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diets. *Clin. Sci. Lond.* v.86, p.217-222, 1994.

LAWN, L.; McCANCE, R.A. Ventures with an artificial placenta - I. Principles and preliminary results. *Proc. R. Soc. Lond B. Biol. Sci.* v.155, p.500-509, 1992.

LEIJNSE, J.N.; D'HERDE, K. Revisiting the segmental organization of the human spinal cord. *J. Anat.* v.229, p.384-393, 2016.

LEEuwEN, P.V.; LANGE, S.; BETTERMANN, H.; GRONEMEYER, D.; HATZMANN, W. Fetal heart rate variability and complexity in the course of pregnancy. *Early Hum. Dev.*, v.54, p.259-269, 1999.

LÉONARD, A.; CLÉMENT, S.; KUO, C.D.; MANTO, M. Changes in Heart Rate Variability During Heartfulness Meditation: A Power Spectral Analysis Including the Residual Spectrum. *Front. Cardiovasc. Med.* v.6, p.1-8, 2019.

LEVY, M.N. Autonomic interactions in cardiac control. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* v.601, p.209-221, 1990.

LOCATELLI, P.; OLEA, F.; LORENZI, A.; SALMO, F.; JANAVEL, G.L.V.; HNATIUK, A.P.; GUEVARA E.; CROTOGINI A.J. Reference values for echocardiographic parameters and indexes of left ventricular function in healthy, young adult sheep used in translational research: comparison with standardized values in humans. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, v.4, p.258-264, 2011.

LUMBERS, E.R., PRINGLE, K.G. Roles of the circulating renin-angiotensin-aldosterone system in human pregnancy. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* v.306, p.R91–R101, 2014.

MABIE, W.C.; DISESSA, T.G.; CROCKER, L.G.; SIBAI, B.M.; ARHEART, K.L. A longitudinal study of cardiac output in normal human pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* v.170, p.849-856, 1994.

MULKEY, S.B.; KOTA, S.; SWISHER, C.B.; HITCHINGS, L.; METZLER, M.; WANG, Y.; MAXWELL, G.L.; BAKER, R.; du PLESSIS, A.J. Autonomic nervous system depression at term in neurologically normal premature infants. *Early Hum. Dev.* v.123, p.11-16, 2018.

NAGEL, C.; AURICH, J.; AURICH, C. Determination of heart rate and heart rate variability in the equine fetus by fetomaternal electrocardiography. *Theriogenology.* v.73, p.973-983, 2010.

NAGEL, C.; AURICH, J.; AURICH, C. Heart Rate and Heart Rate Variability in the Pregnant Mare and its Foetus. *Reprod. Dom. Anim.* v.46, p.990-993, 2011.

NAGEL, C.; TRENK, C.; AURICH, J.; WULF, M.; AURICH, C. Changes in blood pressure, heart rate and blood profile in mares during the last 3 months of gestation and the peripartum period. *Theriogenology.* p.1-9, 2016a.

NAGEL, C.; AURICH, J.; TRENK, L.; ILLE, N.; DRILLICH, M.; POHL, W.; AURICH, C. Stress response and cardiac activity of term and preterm calves in the perinatal period. *Theriogenology*. v.86, p.1498-1505, 2016b.

OPPEN, A.C.C.V.; STIGTER, R.H.; BRUINSE, H.W. Cardiac output in normal pregnancy: a critical review. *Obstet. Gynecol.* v.87, p.310-318, 1996.

OZAKI, T.; HAWKINS, P.; NISHINA, H.; STEYN, C.; POSTON, L.; HANSON, M.A. Effects of undernutrition in early pregnancy on systemic small artery function in late-gestation fetal sheep. *Am. J. Obstet. Gynecol.* v.183, p.1301-1307, 2000.

OZAWA, K.; DAVEY, M.G.; TIAN, Z.; HORNICK, M.A.; MEJADDAM, A.Y.; MCGOVERN, P.E.; FLAKE, A.W.; RYCHIK, J. Fetal echocardiographic assessment of the cardiovascular impact of prolonged support in the EXTrauterine Environment for Neonatal Development (EXTEND) system. *Ultrasound. Obstet. Gynecol.* doi: 10.1002/uog.20295. 2019.

PAPAIOANNOU, V.; PNEVMATIKOS, I. Heart Rate Variability: A Potential Tool for Monitoring Immunomodulatory Effects of Parenteral Fish Oil Feeding in Patients With Sepsis. *Nutr. Metab. Insights*. v.12, p.1-10, 2019.

PARTRIDGE, E.A.; DAVEY, M.G.; HORNICK, M.A.; MCGOVERN, P.E.; MEJADDAM, A. Y.; VRECENAK, J.D.; MESAS-BURGOS, C.; OLIVE, A.; CASKEY, R.C.; WEILAND, T.R.; HAN, J.; SCHUPPER, A.J.; CONNELLY, J.T.; DYSART, K.C.; RYCHIK, J.; HEDRICK, H.L.; PERANTEAU, W.H.; FLAKE, A.W. An extra-uterine system to physiologically support the extreme premature lamb. *Nat. Commun.* v.8, p. 1-15, 2017.

PATEL, P.A.; ROY, A.; JAVID, R.; DALTON, J.A. A contemporary review of peripartum cardiomyopathy. *Clin. Med. Lond.* v.17, p.316-321.

PRESTES, N.C.; LANDIM-ALVARENGA, F.C. Obstetrícia Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, p.70-73.

QUEVEDO, D.A.; LOURENÇO, M.L.G.; BOLAÑOS, C.A.; ALFONSO, A.; ULIAN, C.M.V.; CHIACCHIO, S.B. Maternal, fetal and neonatal heart rate and heart rate variability in Holstein cattle. *Pesq. Vet. Bras.* v.39, p.286-291, 2019.

RABBANI, S.; AHMADI, H.; FAYAZZADEH, E.; SAHEBJAM, M.; BOROUMAND, M.A.; SOTUDEH, M.; NASSIRI, S.M. Development of an ovine model of myocardial infarction. *Anz. J. Surg.* v.78, p.78-81, 2008.

RIBEIRO, E.L.A.; GONZÁLEZ-GARCÍA, E. Indigenous sheep breeds in Brazil: potential role for contributing to the sustainability of production systems. *Trop. Anim. Health. Prod.* v.48, p.1305–1313, 2016.

ROY, B.; GHATAK, S. Métodos Não-Lineares para Avaliar Mudanças na Variabilidade da Frequência Cardíaca em Pacientes com Diabetes Tipo 2. *Arq. Bras. Cardiol.* v.101, p.317-327, 2013.

RUBLIN, S.; DAMANI, P.M.; PINTO, E.R. Cardiac size and performance during pregnancy estimated with echocardiography. *Am. J. Cardiol.* v.40, p.534-540, 1977.

RUDOLPH, A.M.; HEYMANN, M.A. Circulatory Changes during Growth in the Fetal Lamb. *Circ. Res.* v.27, p.289-299, 1970.

SACHA, J.; PLUTA, W. Alterations of an average heart rate change heart rate variability due to mathematical reasons. *Int. J. Cardiol.* v.128, p.444-447, 2008.

SHARUN, K.; ERDOĞAN, G. A Review: Obstetrical Emergencies in Small Ruminants. *Alex. J. Vet. Sci.* v.62, p.1-16, 2019.

SAMSON, F.; BONNET, N.; HEIMBURGER, M.; RUCKER-MARTIN, C.; LEVITSKY, D.O.; MAZMANIAN, G.M.; MERCADIER, J.J.; SERRAF, A. Left ventricular alterations in a model of fetal left ventricular overload. *Pediatr. Res.* v.48, p.43-49, 2000.

SANDGREN, J.; SCHOLZ, T.D.; SEGAR, J.L. ANG II modulation of cardiac growth and remodeling in immature fetal sheep. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* v.308, p. R965-R972, 2015.

SANGHAVI, M.; RUTHERFORD, J.D. Cardiovascular Physiology of Pregnancy. *Circulation.* v.130, p.1003-1008, 2014.

SANTOS, V.J.C.; RODRIGUEZ, M.G.K.; da SILVA, P.A.; MARIANO, R.S.G.; TAIRA, A.R.; de ALMEIDA, V.T.; USCATEGUI, R.A.R.; NOCITI, R.P.; TEIXEIRA, P.P.M.; FELICIANO, M.A.R.; VICENTI, W.R.R. B-mode ultrasonography and ecobiometric parameters for assessment of embryonic and fetal development in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* v.197, p.193-202, 2018.

SAUL, J.P. Beat-to-beat variations of heart-rate reflect modulation of cardiac autonomic outflow. *News Physiol. Sci.* v.5, p.32-37, 1990.

SELIG, F.A.; TONOLLI, E.R.; SILVA, E.V.C.M.; GODOY, M.F. Variabilidade da Frequência Cardíaca em Neonatos Prematuros e de Termo. *Arq. Bras. Cardiol.* [online]. v.96, p.443-449, 2011.

SESSA, F.; ANNA, V.; MESSINA, G.; CIBELLI, G.; MONDA, V.; MARSALA, G.; RUBERTO, M.; BIONDI, A.; CASCIO, O.; BERTOZZI, G.; PISANELLI, D.; MAGLIETTA, F.; MESSINA, A.; MOLLIKA, M.P.; SALERNO, M. Heart rate variability as predictive factor for sudden cardiac death. *Aging (Albany NY)*. v.10, p.166-177, 2018.

SHIBASAKI, M.; CRANDALL, C.G. Mechanisms and controllers of eccrine sweating in humans. *Front Biosci. (Schol Ed)*. v.2, p.685-696, 2010.

SOMA-PILLAY, P.; NELSON-PIERCY, C.; TOLPPANEN, H.; MEBAZAA, A. Physiological changes in pregnancy. *Cardiovasc. J. S. Afr.* v.27, p.89-94, 2016.

STACEY, T.; THOMPSON, J.; MITCHELL, E.A.; EKEROMA, A.J.; ZUCCOLLO, J.M., MCCOWAN, L.M.E. Association between maternal sleep position and risk of late stillbirth: a case control study. *BMJ*. v.342, d3403, 2011.

STEIN, P.; HAGLEY, M.; COLE, P.; DOMITROVICH, P.; KLEIGER, R.; ROTTMAN, J. Changes in 24-hour heart rate variability during normal pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* v.180, p.978-985, 1998.

STONE, P.R.; BURGESS, W.; MCINTYRE, J.P.R.; GUNN, A.J.; LEAR, C.A.; BENNET, L.; MITCHELL, E.A.; THOMPSON, J.M.D. Effect of maternal position on fetal behavioural state and heart rate variability in healthy late gestation pregnancy. *J. Physiol.* v.595, p.1213-1221, 2017.

STROSBERG, A.D. Structure, function, and regulation of adrenergic receptors. *Protein Sci.* v.8, p.1198-209, 1993.

STUCKE, D.; RUSE, M.G.; LEBELT, D. Measuring heart rate variability in horses to investigate the autonomic nervous system activity – Pros and cons of different methods. *Appl. Anim. Behav. Sci.* v.166, p.1-10, 2015.

TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY AND THE NORTH AMERICAN SOCIETY OF PACING AND ELECTROPHYSIOLOGY. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Eur. Heart J.* v.17, p.354-381, 1996.

TEJERA, E.; PLAIN, A.; PORTELINHA, A.; CACERES, J.; REBELO, I.; NIETO-VILLAR, J.M. Heart rate variability complexity in the aging process. *J. Comp. Math. Meth. Med.* v.18, p.287-296, 2007.

THAYER, J.F.; YAMAMOTO, S.S.; BROSSCHOT, J.F. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. *Int. J. Cardiol.* v.141, p.122-131, 2010.

THAYER, J.F.; ÅHS, F.; FREDRIKSON, M.; SOLLERS, J.J.; WAGER, T.D. A meta-analysis of heart rate variability and neuroimaging studies: Implications for heart rate variability as a marker of stress and health. *Neurosci. Biobehav Rev.* v.36, p.747-756, 2012.

TRENK, L.; KUHL, J.; AURICH, J.; AURICH, C.; NAGEL, C. Heart rate and heart rate variability in pregnant dairy cows and their fetuses determined by fetomaternal electrocardiography. *Theriogenology*, v.84, p.1405-1410, 2015.

VÖGELI, S.; LUTZA, J.; WOLF, M.; WECHSLERA, B.; GYGAXA, L. Valence of physical stimuli, not housing conditions, affects behaviour and frontal cortical brain activity in sheep. *Behav. Brain Res.* v.267, p.144-155, 2014.

VONNAHME, K.A.; HESS, B.W.; HANSEN, T.R.; MCCORMICK, R.J.; RULE, D.C.; MOSS, G.E. Maternal undernutrition from early-to-mid-gestation leads to growth retardation, cardiac ventricular hypertrophy, and increased liver weight in the fetal sheep. *Biol. Reprod.* v.69, p.133-140, 2003.

ZAPOL, W.M.; KOLOBOW, T.; PIERCE, J.G.G.; BOWMAN, R.L. Artificial placenta: two days of total extrauterine support of the isolated premature lamb fetus. *Sci.* v.166, p.617-618, 1969.

WALTERS, W.A.W. Maternal Adaptation to Pregnancy. *Princ. Med. Biol.* v.12, p.183-209, 1998.

WEBER, C.S.; THAYER, J.F.; RUDAT, M.; WIRTZ, P.H.; ZIMMERMANN-VIEHOFF, F.; THOMAS, A.; PERSCHEL, F.H.; ARCK, P.C.; DETER, H.C. Low vagal tone is associated with impaired post stress recovery of cardiovascular, endocrine, and immune markers. *Eur. J. Appl. Physiol.* v.109, p.201-211, 2010.

WRUTNIAK-CABELLO, C.; CASAS, F.; CABELLO, G. Thyroid hormone action in mitochondria. *J. Mol. Endocrinol.* v.26, p.67-77, 2001.

YADEGARI, M. Normal echocardiographic findings in LoriBakhtiari sheep. *HVM Bioflux.* v.6, p.45-48, 2014.

NORMAS DAS REVISTAS

Artigo Científico 1

Link para acesso Reproduction Animal Science:

<https://www.elsevier.com/journals/animal-reproduction-science/0378-4320/guide-for-authors>

Artigo Científico 2

Link para acesso Small Ruminant Research:

<https://www.elsevier.com/journals/small-ruminant-research/0921-4488/guide-for-authors>

Artigo Científico 3

Link para acesso The Journal of Veterinary Medical Science:

<http://jsvetsci.jp/jvms/instructions-for-authors/>

APÊNDICE

Quadro 1. Índices de VFC no domínio do tempo.

Índices	Descrição
NN Médio (ms)	Intervalo RR médio de todo o registro
SDNN (ms)	Desvio-padrão da média de todos os intervalos RR normais
SDANN (ms)	Desvio-padrão da média dos intervalos RR normais a cada 5 minutos
SDNN index (ms)	Média dos desvios-padrão dos intervalos RR normais a cada 5 minutos
PNN50 (%)	Porcentagem de intervalos RR adjacentes com diferença de duração superior a 50 milissegundos
RMSSD (ms)	Raiz quadrada da média do somatório dos quadrados das diferenças entre intervalos RR adjacentes

Quadro 2. Índices de VFC no domínio da frequência.

Índice	Descrição
Alta Frequência (HF) (Hz)	Variação de alta frequência (0,15 - 0,4 Hz) no ritmo cardíaco, que corresponde à modulação respiratória e indica a atuação do SNP no coração.
Baixa Frequência (LF) (Hz)	Variação de baixa frequência (0,04 - 0,15 Hz) no ritmo cardíaco, que representa a ação do SNS e SNP sobre o coração, possivelmente refletindo a sensibilidade barorreflexa.
Muito Baixa Frequência (VLF) (Hz)	Variação de muito baixa frequência (0,003 - 0,04 Hz) no ritmo cardíaco. É um componente pouco estudado e parece representar os ciclos termorregulatórios, atividade da renina e componente vasomotor.
Ultra-Baixa Frequência (ULF) (Hz)	Variação extremamente lenta (< 0,0003 Hz) no ritmo cardíaco. Surge apenas em registros de longa duração e parece refletir os ritmos neuroendócrinos e circadianos.

Tabela 1. Dados reprodutivos (prolificidade, proporção sexual de cordeiros já nascidos) e idade em 10 ovelhas da raça Dorper submetidas ao protocolo de inseminação artificial por tempo fixo.

Mães	Idade (anos)	Prolificidade	Proporção sexual dos cordeiros
1	2	1	1 (1F, 0M)
2	5	5	9 (4F, 5M)
3	3	1	1 (1F, 0M)
4	7	6	11 (7F, 4M)
5	4	4	7 (1F, 6M)
6	5	6	7 (3F, 4M)
7	5	5	6 (3F, 3M)
8	5	4	6 (4F, 2M)
9	4	3	3 (3F, 0M)
10	4	3	4 (3F, 1M)

Tabela 2 – Avaliação ecocardiográfica fetal (diástole) (média, desvio-padrão, mínimo, máximo, intervalos interquartis) em ovinos da raça Dorper.

Medidas	3° mês	1° quartil	3° quartil	4° mês	1° quartil	3° quartil	5° mês	1° quartil	3° quartil	p
Eixo longo	3,27±1,35 (2,66;3,79)	2,81	3,70	3,87±0,46 (3,28;6,35)	3,31	3,94	4,32±1,32 (2,97;6,35)	3,18	5,53	0,411
Diâm. Card.	2,51±0,35 (2,11;3,07)	2,22	2,86	2,64±0,38 (2,34;3,10)	2,38	3,02	2,98±0,52 (2,38;3,75)	2,52	3,44	0,241
Diâmetro AD	1±0,47 (0,44;1,70)	0,61	1,44	1,06±0,26 (0,75;1,42)	0,84	1,32	1,31±0,36 (0,81;1,70)	1,00	1,65	0,204
Diâmetro AE	0,79±0,22 (0,51;1,15)	0,63	0,98	0,87±0,33 (0,61;1,42)	0,64	1,15	1,04±0,23 (0,85;1,42)	0,86	1,23	0,211
Diâmetro VD	0,74±0,28 (0,41;1,16)	0,51	0,99	1,01±0,29 (0,63;1,27)	0,70	1,25	1,02±0,32 (0,72;1,53)	0,77	1,27	0,623
Diâmetro VE	0,62±0,21 (0,44;0,75)	0,47	0,73	0,65±0,09 (0,54;0,98)	0,56	0,80	0,82±0,20 (0,63;1,07)	0,63	1,03	*0,030

Teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov; comparação entre momentos teste de Friedmann; intervalos interquartis para as comparações múltiplas; *significância: $p < 0,05$; Diâm. Card.: diâmetro cardíaco;

AD: átrio direito; AE: átrio esquerdo; VD: ventrículo direito; VE: ventrículo esquerdo

Tabela 3 – Parâmetros clínicos maternos (média, desvio-padrão, mínimo e máximo) obtidos no período gestacional e após o nascimento em ovelhas da raça Dorper.

Parâmetros clínicos	2 meses gestação	3 meses gestação	4 meses gestação	5 meses gestação	Horas após nascimento	Valor p
FC (bpm)	80±12,75 ^{abc} (64;112)	90±23,05 ^{ab} (44;140)	84±20,48 ^{abc} (58;124)	106±27,47 ^c (48;152)	-	*0,007
FR (mpm)	47±19,82 ^a (28;112)	50±22,56 ^a (24;100)	42±12,72 ^a (20;60)	83±34,23 ^b (44;140)	-	*0,000
T (°C)	38,8±0,25 ^{ac} (38,5; 39,3)	38,5±0,42 ^b (38,3;38,8)	38,9±0,45 ^{abc} (38,3;39,8)	39,3±0,26 ^{abc} (39,1;39,9)	-	*0,000
Mucosas	1	1	1	1	-	
TPC	2	2	2	2	-	
PA (mmHg)						
Diastólica	112±43,20 ^{abc} (60;225)	108±31,87 ^{ab} (60;170)	120±37,06 ^{abc} (60;185)	119±27,30 ^{abc} (65;170)	2:127±27,14 (75;165) ^c 24:146±35,34 (100;225) ^{abc}	0,001
Média	143±35,64 ^a (95;230)	130±28,80 ^{cd} (80;190)	138±34,99 ^{abd} (75;205)	142±24,75 ^{abcd} (85;180)	2:144±27,72 (85; 175) ^{abcd} 24:154±31,79 (90;230) ^d	*0,004
Sistólica	195±38,26 ^{ab} (130;270)	173±31,66 ^{abc} (130;230)	165±44,20 ^c (90;250)	171±25,89 ^{abc} (125;220)	2:165±32,43 (100;205) ^{abc} 24:184±35,28 (105;240) ^a	*0,003
FC Pet Map	98±23,64 ^a (70;155)	88±24,04 ^a (40;135)	114±27,64 ^b (60;170)	126±24,22 ^c (75;170)	2:128±24,78 (75; 175) ^d 24:131±28,45 (80;205) ^e	*0,000

Mucosas: 1 = normocoradas, 2= hipocoradas, 3= congestas TPC: 1= > 2 segundos, 2= < 2 segundos. Teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov; comparação entre momentos teste de Friedmann. *significância: p <0,05; ^{ab} letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença significativa entre os períodos avaliados.

Tabela 4 – Parâmetros ecocardiográficos (média, desvio-padrão, mínimo e máximo) maternos obtidos durante o período gestacional e 24 horas após o parto.

Parâmetros ecocardiográficos	2 meses gestação	3 meses gestação	4 meses gestação	5 meses gestação	24 hrs. pós-parto	p
SIVd (cm)	0,91±0,21 (0,57;1,51) ^a	1,04±0,17 (0,76;1,39) ^{abc}	1,0±0,17 (0,78;1,39) ^{bc}	1,01±0,17 (0,69;1,33) ^{bc}	1,08±0,24 (0,76;1,63) ^{bc}	*0,045
DIVEd (cm)	4,86±0,52 (3,90;5,89) ^a	4,53±0,67 (3,54;6,05) ^b	4,24±0,55 (3,02;5,06) ^{abc}	4,28±0,69 (2,65;5,55) ^{abc}	4,26±0,68 (3,11;5,20) ^{ac}	*0,009
PLVEd (cm)	1,10±0,31(0,76;2,02)	1,04±0,24(0,61;1,58)	1,05±0,15(0,63;1,26)	1,21±0,26(0,88;1,89)	1,14±0,21(0,79; 1,51)	0,178
SIVs (cm)	1,46±0,21 (1,17;1,95) ^a	1,53±0,24 (1,19; 2,08) ^{ab}	1,51±0,18 (1,29;1,83) ^a	1,55±0,24 (1,20; 2,21) ^{ac}	1,57±0,19 (1,20;1,88) ^{ad}	0,048
DIVEs (cm)	3,15±0,42 (2,39;3,91) ^a	2,89±0,5 (1,86;3,97) ^b	2,65±0,47 (1,95;3,59) ^{bc}	2,56±0,49 (1,58;3,41) ^c	2,64±0,55 (1,67;3,34) ^b	*0,004
PLVEs cm	1,76±0,27 (1,23;2,15) ^{ab}	1,54±0,29 (1,05;2,39) ^a	1,46±0,23 (0,88;1,75) ^{ab}	1,62±0,20 (1,32;2) ^b	1,56±0,27 (1,20;2,08) ^{ab}	*0,006
FE (%)	64±5,7 (55;76) ^a	66±6,6 (53;81) ^b	68±8,5 (53;83) ^{bc}	70±7,33 (59;83) ^{ac}	68±6,6 (61;82) ^{bc}	*0,04
FEVE (%)	35±4,33(29;45)	36±5,18(27;49)	38±6,85(28;51)	40±6,07(31;52)	38±5,4(33;50)	0,062
AE (cm)	4,08±0,42 (3,56;4,96) ^a	4,15±0,25 (3,58;4,50) ^{bc}	4,20±0,36 (3,33;4,84) ^{bc}	3,83±0,46 (3,04;4,73) ^{abc}	3,90±0,43(3,32;4,89) ^{abc}	*0,008
Ao (cm)	2,36±0,34(1,87;2,96)	2,25±0,29(1,76;2,78)	2,31±0,37(1,44;2,98)	2,26±0,28(1,84;2,94)	2,33±0,31 (1,84;2,92)	0,415
AE/Ao	1,74±0,19(1,45;2,19)	1,86±0,21(1,51; 2,24)	1,85±0,28(1,42;2,51)	1,73±0,24(1,38;2,40)	1,67±0,14 (1,50;2,04)	0,065
Veloc. Pulm. (cm/s)	79,99±11,40(65,70;106,20)	79,28±11,64(61;111,30)	79,41±12,51(64,60;105)	79,93±11,05(61;103,60)	79,69±11,7(61;104,10)	0,973
Grd. pres.(mmHg)	2,64±0,77(1,73;4,51)	2,58±0,78(1,49;4,96)	2,62± 0,85(1,67;4,41)	2,64±0,75(1,49;4,31)	2,66±0,73(149;4,33)	0,942

Teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov; comparação entre momentos teste de Friedmann; diástole (d) e sístole (s): septo interventricular (SIV), diâmetro interno do ventrículo esquerdo (DIVE), parede livre do ventrículo esquerdo (PLVE), fração de ejeção (FE), fração de encurtamento do, ventrículo esquerdo (FEVE), átrio esquerdo (AE), aorta (Ao), relação AE/Ao, velocidade fluxo sanguíneo na valva pulmonar (veloc. pulm.), gradiente de pressão entre ventrículo direito e artéria pulmonar (grd. pres.). *significância: p<0,05; ^{ab} letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença significativa entre os períodos avaliados.

Tabela 5 – Índices de VFC maternos (média, desvio-padrão, mínimo e máximo) durante o período gestacional e 24 horas após o parto.

VFC materna	2 meses gestação	3 meses gestação	4 meses gestação	5 meses gestação	24 hrs. pós-parto	p
FC Min.	86±23 ^{ab} (43;122)	41±3,37 ^a (39;52)	75±9,27 ^{ab} (63;99)	44±4,45 ^b (39;53)	46±5,22 ^{ab} (42;61)	*0,000
FC Méd.	114±23,27 ^a (66;148)	81±9,48 ^{ab} (65;103)	114±12,1 ^{ab} (93;134)	81±15 ^{ab} (65;132)	94±15 ^b (72;117)	*0,000
FC Máx.	158±21,78 ^{ab} (96;186)	141±17,2 ^a (99;150)	183±8,58 ^{ab} (165;197)	136±12,48 ^b (101;149)	138±16,44 ^{ab} (98;150)	*0,000
RR (ms)	554±136,68 ^a (406;914)	749±90,67 ^{ab} (580;925)	529±57,2 ^{ab} (446;643)	757±113,46 ^{ab} (455;926)	653±107 ^b (515;835)	*0,000
SDNN (ms)	9,95±4,60 ^a (4,70;18,40)	12,51±7,45 ^{ab} (6,70;32,60)	17,20±14,84 ^b (4,20;55,10)	36,83±24,32 ^{ab} (9,60;96,70)	45,01±22,37 ^{ab} (11,50;93,20)	*0,000
RMSSD (ms)	6,42±3,59 ^a (2,80;15,20)	10,49±5,40 ^b (5,70; 24,40)	11,58±9,84 ^{bc} (2,70;33,60)	29,23±23,55 ^{abc} (7,60;91,60)	36,74±28,47 ^{abc} (12,30; 127,40)	*0,000
PNN50 %	0,29±0,77 ^{ab} (0;2,41)	1,04±1,5 ^a (0;5,36)	2,46±5,27 ^{ab} (0;18,75)	7,84±13,4 ^b (0;50)	6,24±4,83 ^{ab} (0,80;16,57)	*0,000
LF (n.u.)	75,91±14,98 (46,18;94,79)	75,25±8,56 (58,03;86,80)	73,69±9,19 (60,33;91,98)	74,58±17,89 (25,34;95,46)	76,07±14,21 (48,16;93,71)	0,653
HF (n.u.)	24,05±14,98 (5,14;53,81)	24,96±9,15 (13,17;45,85)	25,33±8,90 (7,98;39,56)	25,28±17,86 (4,53;74,61)	23,88±14,18 (6,25;51,83)	0,653
LF/HF	5,58±5,22 (0,86;18,43)	3,51±1,59 (1,18;6,59)	3,58±2,63 (1,53;11,53)	5,17±5,03 (0,34;21,07)	5,70±4,14 (1,39;14,99)	0,421

Teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov; *significância: p <0,05; comparação entre momentos teste de Friedman; n.u. = normalizados. FC: frequência cardíaca; Min: mínima; Méd: média; Máx: máxima; RR: intervalos RR; SDNN: desvio-padrão da média de todos os intervalos RR; RMSSD: raiz quadrada das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado; PNN50: percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 ms de seu adjacente; HF: high frequency; LF: low frequency; ^{ab} letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença significativa entre os períodos avaliados.

Tabela 6 – Índices de VFC fetal (média, desvio-padrão, mínimo, máximo) no quarto e quinto mês de gestação.

VFC fetal	4º mês	5º mês	p
Min.	153±11,20 (136;173)	153±13,49 (136;183)	0,941
FC Méd.	195±12,00 (158;208)	191±16,43 (159;220)	0,404
Máx.	258±22,45 (169;270)	248±23,44 (182;267)	0,184
RR (ms)	308±21,18 (288;379)	315±28,23 (272;376)	0,369
SDNN (ms)	6±4,81 (2,3;23,3)	5,7±2,68 (2,5;12,0)	0,843
RMSSD (ms)	4,26±4,25 (1,2;18,6)	3,71±2,30 (1,6;8,9)	0,643
PNN50 (%)	0,37±1,63 (0;7,14)	0,6±0,25 (0,1)	0,455
LF (n.u.)	59,17±25,27 (13,22;93,15)	48,78±29,71 (1,77;88,42)	0,271
HF (n.u.)	40,68±25,18 (6,81;86,56)	50,97±29,51 (11,57;98,08)	0,273
LF/HF	3,18±3,66 (0,15;13,68)	1,96±2,19 (0,01;7,64)	0,252

Teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov; *significância: $p < 0,05$; comparação entre momentos teste de Friedmann; n.u. = normalizadas. FC: frequência cardíaca; Min: mínima; Med: média; Máx: máxima; RR: intervalos RR; SDNN: desvio-padrão da média de todos os intervalos RR; RMSSD: raiz quadrada das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado; PNN50: percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 ms de seu adjacente; HF: high frequency; LF: low frequency.

Tabela 7 – VFC em cordeiros (média, desvio-padrão, mínimo, máximo) a partir de 24 horas de nascimento até 120 dias de idade.

VFC	24 horas	7 dias	14 dias	21 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	p
FC									
Min.	178±39,43 ^a (120;246)	165±35,70 ^{ab} (110;221)	164±26,93 ^{bc} (136;219)	137±39,77 ^{bc} (82;227)	134±25 (100;197)	130±21,88 (86;173)	140±13,48 (107;157)	131±18,18 (105;158)	*0,000
Méd.	199±38,71 ^a (134;255)	199±37,74 ^{ab} (148;247)	179±27,45 ^{bc} (144;230)	159±40,57 ^{bc} (102;253)	149±28,09 (107;222)	162±25,03 (106;198)	154±17,33 (110;175)	149±17,53 (123;175)	*0,000
Máx.	239±34,30 ^a (164;270)	245±32,25 ^{ab} (190;270)	213±38,70 ^{bc} (151;270)	205±47,14 ^{bc} (122;261)	171±31 (120;254)	217±27,98 (166;251)	176±22,07 (118;200)	199±38,76 (139;259)	*0,000
RR (ms)	311±62,64 ^a (236;449)	311±61,30 ^{ab} (243;407)	340±50,44 ^{bc} (261;417)	398±98,18 ^{bc} (237;589)	414±70,85 (270;559)	380±71,23 (304;568)	393±53,38 (343;543)	405±48,59 (343;487)	*0,000
SDNN (ms)	1,77±1,39 ^{ac} (0,40;4,10)	3,19±2,90 ^{ab} (0,60;9,30)	1,17±1,75 ^b (0,50;6,70)	3,53±4,15 ^c (0,70; 15,20)	0,69±0,14 (0,60;1,10)	3,83±2,98 (0,90;11,30)	0,71±0,09 (0,60;0,90)	3,14±2,52 (0,90;7,60)	*0,000
RMSSD (ms)	0,66±0,44 ^a (0,20;1,40)	1,38±1,22 ^{bc} (0,30;4)	0,56±0,59 ^a (0,20;2,40)	1,45±1,45 ^c (0,40;5,50)	0,52±0,14 (0,30;0,80)	1,70±1,07 (0,60;3,50)	0,48±0,08 (0,40;0,70)	1,30±0,84 (0,50;3)	*0,000
PNN50 (%)	0±0 (0;0)	0,01±0,04 (0;0,15)	0,01±0,03 (0;0,1)	0±0 (0;0)	0±0 (0;0)	0,03±0,07 (0;0,19)	0±0 (0;0)	0,01±0,04 (0;0,15)	0,474
LF (n.u.)	75,45±8,20 ^{ab} (57,35;90,96)	75,19±16,44 ^a (40,91;95,33)	72,81±9,48 ^a (56,20;83,09)	65,08±15,68 ^b (43,99;92,4)	60,58±16,47 (27,93;77,7)	53,73±17,90 (29,50;79,5)	66,77±6,94 (54,32;76,7)	62,86± 11,03 (40,83;77)	*0,008
HF (n.u.)	24,51±8,19 ^{ab} (9,01;42,61)	24,75±16,40 ^a (4,66;58,91)	27,14±9,45 ^a (16,87;43,77)	34,81±15,63 ^b (7,47;55,65)	39,35±16,49 (25,68;49,4)	46,17±17,90 (20,44;70,4)	34,50±9,83 (23,19;58,4)	37,04±10,98 (22,93;58,8)	*0,005
LF/HF	3,65±2,20 ^{ab} (1,35;10,10)	5,12±5,16 ^a (0,69;20,44)	3,10±1,35 ^a (1,28;4,93)	3,07±3,38 ^b (0,79;12,37)	1,93±1,08 (0,39;3,50)	1,59±1,26 (0,42;3,89)	5,49±11,39 (1,21;41,59)	1,90±0,78 (0,69;3,36)	*0,008

Teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov; *significância: $p < 0,05$; comparação entre momentos teste de Friedman; n.u. = normalizadas. FC: frequência cardíaca; Min: mínima; Méd: média; Máx: máxima; RR: intervalos RR; SDNN: desvio-padrão da média de todos os intervalos RR; RMSSD: raiz quadrada das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado; PNN50: percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 ms de seu adjacente; HF: high frequency; LF: low frequency; ^{ab} letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença extremamente significativa ($p < 0,001$) entre diferentes momentos do período neonatal (24 horas após nascimento até 21 dias de idade).

Tabela 8. Comparação dos índices de VFC no período fetal (4º mês) e no período neonatal em ovinos da raça Dorper.

VFC	4º mês	24 horas	7 dias	14 dias	21 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias
FC Min.	153±11,20 ^a	178±39,43 ^a	165±35,70 ^a	164±26,93 ^a	137±39,77 ^a	134±25 ^a	130±21,88 ^a	140±13,48 ^a	131±18,18 ^a
FC Méd.	195±12,00 ^a	199±38,71 ^{ac}	199±37,74 ^{ac}	179±27,45 ^{ac}	159±40,57 ^{ac}	149±28,09 ^c	162±25,03 ^{ac}	154±17,33 ^{ac}	149±17,53 ^{ac}
FC Máx.	258±22,45 ^a	239±34,30 ^{abcd}	245;32,25 ^{abcd}	213±38,70 ^{bcd}	205±47,14 ^{ab}	171±31 ^{bcd}	217±27,98 ^{abcd}	176±22,07 ^{bcd}	199±38,76 ^{abcd}
RR (ms)	308±21,18 ^a	311±62,64 ^{abcd}	311±61,30 ^{abcd}	340±50,44 ^{abcd}	398±98,18 ^{abcd}	414±70,85 ^{bcd}	380±71,23 ^{abcd}	393±53,38 ^{bcd}	405±48,59 ^{bcd}
SDNN (ms)	6±4,81 ^a	1,77±1,39 ^{abcd}	3,19±2,90 ^{abcd}	1,17±1,75 ^{bcd}	3,53±4,15 ^{ab}	0,69±0,14 ^{bcd}	3,83±2,98 ^{abcd}	0,71±0,09 ^{bcd}	3,14±2,52 ^{abcd}
RMSSD (ms)	4,26±4,25 ^a	0,66±0,44 ^{abcd}	1,38±1,22 ^{abcd}	0,56±0,59 ^{bcd}	1,45±1,45 ^{ab}	0,52±0,14 ^{bcd}	1,70±1,07 ^{abcd}	0,48±0,08 ^{bcd}	1,30±0,84 ^{abcd}
PNN50 (%)	0,37±1,63 ^a	0±0 ^a	0,01±0,04 ^a	0,01±0,03 ^a	0±0 ^a	0±0 ^a	0,03±0,07 ^a	0±0 ^a	0,01±0,04 ^a
LF (n.u.)	59,17±25,27 ^a	75,45±8,20 ^a	75,19±16,44 ^a	72,81±9,48 ^a	65,08±15,68 ^a	60,58±16,47 ^a	53,73±17,90 ^a	66,77±6,94 ^a	62,86±11,03 ^a
HF (n.u.)	40,68±25,18 ^a	24,51±8,19 ^a	24,75±16,40 ^a	27,14±9,45 ^a	34,81±15,63 ^a	39,35±16,49 ^a	46,17±17,90 ^a	34,50±9,83 ^a	37,04±10,98 ^a
LF/HF	40,68±25,18 ^a	3,65±2,20 ^a	5,12±5,16 ^a	3,10±1,35 ^a	3,07±3,38 ^a	1,93±1,08 ^a	1,59±1,26 ^a	5,49±11,39 ^a	1,90±0,78 ^a

FC: frequência cardíaca; Min: mínima; Med: média; Máx: máxima; RR: intervalos RR; SDNN: desvio-padrão da média de todos os intervalos RR; RMSSD: raiz quadrada das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado; PNN50: percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 ms de seu adjacente; HF: high frequency; LF: low frequency

Tabela 9. Comparação dos índices de VFC no período fetal (5° mês) e no período neonatal em ovinos da raça Dorper.

VFC	5° mês	24 horas	7 dias	14 dias	21 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias
FC Min.	153±13,49 ^a	178±39,43 ^a	165±35,70 ^a	164±26,93 ^a	137±39,77 ^a	134±25 ^a	130±21,88 ^a	140±13,48 ^a	131±18,18 ^a
FC Méd.	191±16,43 ^a	199±38,71 ^{ab}	199±37,74 ^{ab}	179±27,45 ^{ab}	159±40,57 ^{ab}	149±28,09 ^b	162±25,03 ^{ab}	154±17,33 ^{ab}	149±17,53 ^{ab}
FC Máx.	248±23,44 ^a	239±34,30 ^{ab}	245;32,25 ^{ab}	213±38,70 ^{ab}	205±47,14 ^{ab}	171±31 ^b	217±27,98 ^{ab}	176±22,07 ^{ab}	199±38,76 ^{ab}
RR (ms)	315±28,23 ^a	311±62,64 ^{abcd}	311±61,30 ^{abcd}	340±50,44 ^{abcd}	398±98,18 ^{abcd}	414±70,85 ^{bcd}	380±71,23 ^{abcd}	393±53,38 ^{bcd}	405±48,59 ^{bcd}
SDNN (ms)	5,7±2,68 ^a	1,77±1,39 ^{abcd}	3,19±2,90 ^{abcd}	1,17± 1,75 ^{bcd}	3,53±4,15 ^{abcd}	0,69±0,14 ^{bcd}	3,83±2,98 ^{abcd}	0,71±0,09 ^{bcd}	3,14±2,52 ^{bcd}
RMSSD (ms)	3,71±2,30 ^a	0,66±0,44 ^b	1,38±1,22 ^b	0,56±0,59 ^b	1,45±1,45 ^a	0,52±0,14 ^b	1,70±1,07 ^a	0,48±0,08 ^b	1,30±0,84 ^a
PNN50 (%)	0,6±0,25	0±0	0,01±0,04	0,01±0,03	0±0	0±0	0,03±0,07	0±0	0,01±0,04
LF (n.u.)	48,78±29,71	75,45±8,20	75,19±16,44	72,81±9,48	65,08±15,68	60,58±16,47	53,73±17,90	66,77±6,94	62,86± 11,03
HF (n.u.)	50,97±29,51	24,51±8,19	24,75±16,40	27,14±9,45	34,81±15,63	39,35±16,49	46,17±17,90	34,50±9,83	37,04±10,98
LF/HF	50,97±29,51	3,65±2,20	5,12±5,16	3,10±1,35	3,07±3,38	1,93±1,08	1,59±1,26	5,49±11,39	1,90±0,78

FC: frequência cardíaca; Min: mínima; Med: média; Máx: máxima; RR: intervalos RR; SDNN: desvio-padrão da média de todos os intervalos RR; RMSSD: raiz quadrada das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado; PNN50: percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 ms de seu adjacente; HF: high frequency; LF: low frequency

VALORES DE REFERÊNCIA EM OVINOS

Parâmetro clínico	Referência
Temperatura (°C)	Jovens: 39 a 40 Adultos: 38,5 a 40
Frequência cardíaca (bpm)	Ao nascimento: 165,5±47,5 (Bovino, 2011) 169,0±54,0 (Avilla, 2013)
	Às 24 horas: 178,3±31,1 (Bovino, 2011) 187,0±28,0 (Avilla, 2013)
	Adultos: 90 a 115
Frequência respiratória (mpm)	Ao nascimento: 64,4±26,6 (Bovino, 2011) 66,0±23,0 (Avila, 2013)
	Às 24 horas: 75,0±17,8 (Bovino, 2011) 85,0±27,0 (Avila, 2013)
	Adultos: 20 a 30

Francisco Leydson F. Feitosa, 2014.

Parâmetro ecocardiográfico	Boon (2011) (55-95 kg)	Yadegari (2014) Lori-Bakhtiari (40 kg)	Hallowell (2012) Suffolk (70 kg)
SIVd (cm)	0,94±0,17	0,92±0,11	1,19±0,15
DIVEd (cm)	5,17±0,74	2,94±0,18	4,42±0,54
PLVEd (cm)	0,89±0,20	0,93±0,09	0,99±0,14
SIVs (cm)	1,41±0,22	1,45±0,16	1,55±0,18
DIVEs (cm)	3,23±0,46	1,28±0,11	2,62±0,35
PLVEs (cm)	1,53±0,33	1,69±0,1	1,50±0,28
FEVE (%)	37,2±5,7	56,29±2,68	40,2±4,8
AE (cm)	3,02±0,35	1,58±0,36	4,59±,88
Ao (cm)	3,29±0,33	2,03±0,09	3,20±0,31
Rel. Ae/Ao	0,92±0,1	-	-
Veloc. pulmonar (cm/s)	68-116	-	-