

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**AVALIAÇÃO ULTRA-SONOGRÁFICA CONVENCIONAL E
DOPPLERFLUXOMÉTRICA DE OVÁRIO DE CADELAS, DURANTE A FASE
FOLICULAR DO CICLO ESTRAL**

Alexandre Luiz da Costa Bicudo

Botucatu – SP
2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**AVALIAÇÃO ULTRA-SONOGRÁFICA CONVENCIONAL E
DOPPLERFLUXOMÉTRICA DE OVÁRIO DE CADELAS, DURANTE A FASE
FOLICULAR DO CICLO ESTRAL**

Alexandre Luiz da Costa Bicudo

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

Orientadora: Prof. Ass. Dra. Maria
Jaqueline Mamprim

Nome do Autor: Alexandre Luiz da Costa Bicudo

Título: Avaliação ultra-sonográfica convencional e dopplerfluxométrica de ovário de cadelas, durante a fase folicular do ciclo estral.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Ass. Dra. Maria Jaqueline Mamprim

Presidente e Orientadora

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu

Profa. Adj. Maria Denise Lopes

Membro Titular

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu

Profa. Dra. Geórgia Bignardi Jarreta

Membro Titular

Departamento de Diagnóstico por Imagem e Anatomia

UNIMES/UNIMONTE – Santos - SP

Data da Defesa: 5 de junho de 2008.

Aos meus avós, que
sempre me apoiaram.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, a meus pais, meus avós e meus tios (Márcio Pereira Bicudo, Celso Roberto Teixeira de Almeida, Gilson Bicudo e Leonice Bartoli) que ajudaram em minha formação.

Ao departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária.

Ao Sr. Mateus Sugizaki pela orientação durante minha vida e ter me ensinado lutar pelos objetivos.

Ao Prof. Adj. Luiz Carlos Vulcano e Profa. Ass. Dra. Maria Jaqueline Mamprim que confiaram em mim, contribuíram em meu aperfeiçoamento, me tornaram um profissional na área de diagnóstico por imagem e me fizeram ser alguém na vida.

A Profa. Adj. Maria Denise Lopes pela intensa ajuda e incentivo em minha dissertação, no meu dia a dia e por ser uma ótima amiga.

A Senhora Meire Domingues e Selma de Jesus da biblioteca e meu amigo Marco Pelicci.

A Dra. Mariangela Zanini pelos ensinamentos relacionados à imagem.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e desenvolvimento pela bolsa de mestrado para que eu realizasse minha pesquisa.

A família Seco Vicente que um dia torceram pelo meu sucesso.

Ao Dr. Willian Luzetti Fotoran e sua família querida.

Ao meu primo Prof. Dr. Daniel Bartoli de Sousa, um dos incentivadores pela minha atuação na área de diagnóstico por imagem em Botucatu.

Ao Dr. José Marcelo pelo aprendizado ultra-sonográfico direcionado ao modo Doppler e agradeço todos os meus amigos que são simplesmente, meus amigos.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica, do ovário esquerdo, diâmetro externo do folículo nº 1 (mL/mm) e acompanhamento luteal por diâmetro externo da estrutura, IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana da cadela nº 1, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

.....35

Quadro 2 - Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica, do ovário esquerdo, medida do diâmetro externo do folículo nº 2 (mL/mm) e acompanhamento luteal por diâmetro externo, IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana da cadela nº 1, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

.....36

Quadro 3 - Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica do crescimento folicular por diâmetro externo e avaliação luteal pela medida do diâmetro externo da maior estrutura (mL/mm) do ovário direito, IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana da cadela nº 2, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

.....42

Quadro 4 - Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica do folículo pela medida do diâmetro externo do maior folículo e avaliação luteal pela medida do diâmetro interno do corpo lúteo (mL/mm) do ovário esquerdo, IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana da cadela nº 2, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

.....46

Quadro 5 - Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica, medida do diâmetro externo do maior folículo (mL), IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana do ovário direito da cadela nº 3, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

.....51

Quadro 6 - Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica, medida do diâmetro externo do maior folículo (mL), IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana do ovário direito da cadela n° 4, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.....55

Quadro 7 - Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica, medida do diâmetro interno do maior folículo (mL), IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana do ovário esquerdo da cadela n° 5, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.....59

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Esquema do processo de crescimento folicular, ruptura e formação de corpo lúteo por CERRI et al., (1998).33
- Figura 2 A e B:** Fotografia do posicionamento do animal na mesa de exames e seu aspecto tranqüilo.33
- Figura 3:** Esquema representativo das planilhas utilizadas nas mensurações dos folículos e corpos lúteos de cadelas. Botucatu, 2008.31
- Figura 4:** Imagem ultra-sonográfica dúplex Doppler do ovário E da cadela nº 1 na fase de proestro.33
- Figura 5:** Acompanhamento da fase folicular até o colapso pela medida de sua parede externa por meio de planos longitudinais e longitudinais oblíquos do animal nº 1. A – dia 1; B – dia 3; C e D – dia 4; E – dia 6; G,H e I – dia 8.39
- Figura 6:** Imagens ultra-sonográficas do início do acompanhamento luteal do animal nº1. A – dia 9 em plano longitudinal. B e C – dia 10 em plano longitudinal oblíquo e transversal.39
- Figura 7:** Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do desenvolvimento luteal do animal nº 1 em planos longitudinais oblíquos e planos longitudinais. **A** – dia 11. **B** – dia 13. **C** – dia 14. **D** – dia 15. **E** – dia 16.40
- Figura 8:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de resistividade do 1º folículo do ovário esquerdo da fêmea nº 1. Botucatu, 2008.37
- Figura 9:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de pulsatilidade do 1º folículo do ovário esquerdo da fêmea nº 1. Botucatu, 2008.37
- Figura 10:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e velocidade máxima do 1º folículo do ovário esquerdo da fêmea nº 1. Botucatu, 2008.38
- Figura 11:** Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do crescimento folicular e desenvolvimento luteal do ovário direito do animal nº 2. **A** – dia 1. **B** – dia 2. **C** – dia 4. **D** – dia 5. **E** – dia 6. **F** – dia 7.45

- Figura 12:** Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do desenvolvimento luteal do ovário direito do animal n° 2. **A** – dia 7; **B** – dia 9; **C** dia 10; **D** – dia 12; **E** dia 14; **F** – dia 16.....45
- Figura 13:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de resistividade do ovário direito da fêmea n° 2. Botucatu, 2008.....43
- Figura 14:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de pulsatilidade do ovário direito da fêmea n° 2. Botucatu, 2008.....43
- Figura 15:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e velocidade máxima do ovário direito da fêmea n° 2. Botucatu, 2008.....44
- Figura 16:** Imagens ultra-sonográficas da dinâmica folicular e desenvolvimento luteal do ovário esquerdo do animal n° 2. **A** – dia 1; **B** – dia 2; **C** – dia 4; **D** – dia 7; **E** – dia 11, detecção da vascularização intra-ovariana; **F** – 15.....49
- Figura 17:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de resistividade do ovário esquerdo da fêmea n° 2. Botucatu, 2008.....47
- Figura 18:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de pulsatilidade do ovário esquerdo da fêmea n° 2. Botucatu, 2008.....47
- Figura 19:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e velocidade máxima do ovário esquerdo da fêmea n° 2, 2008.48
- Figura 20:** Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do crescimento folicular e desenvolvimento luteal do animal n°3. **A** – dia 1; **B e C**– dia 2; **D** – dia 3; **E** – dia 4 em planos longitudinais e; **F** – dia 6; **G** – dia 8; **H** – dia 10 em planos transversais e longitudinais oblíquos.....53
- Figura 21:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de resistividade do ovário direito da fêmea n° 3. Botucatu, 2008.....52
- Figura 22:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de pulsatilidade do ovário direito da fêmea n° 3. Botucatu, 2008.....52

- Figura 23:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e velocidade máxima do ovário direito da fêmea n° 3. Botucatu, 2008.....52
- Figura 24:** Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do crescimento folicular e desenvolvimento luteal do animal n° 4. **A** – dia 1. **B** – dia 2. **C** – dia 3. **D** – dia 4. **E** – dia 5. **F** – dia 6. **G e H** – dia 9. **I e J** – dia 11.....57
- Figura 25:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de resistividade do ovário direito da fêmea n° 4. Botucatu, 2008.....55
- Figura 26:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de pulsatilidade do ovário direito da fêmea n° 4. Botucatu, 2008.....56
- Figura 27:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e velocidade máxima do ovário direito da fêmea n° 4. Botucatu, 2008.....56
- Figura 28:** Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do crescimento folicular e desenvolvimento luteal do ovário esquerdo do animal n° 5. **A** – dia 1. **B** – dia 3. **C** – dia 4. **D** – dia 7. **E** – dia 8. **F** – dia 9.....61
- Figura 29:** Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do desenvolvimento luteal do ovário esquerdo do animal n° 5. **A** – dia 11. **B** – dia 13.....61
- Figura 30:** Imagem ultra-sonográfica duplex Doppler caracterizando a presença do fluxo sanguíneo em corpo lúteo de ovário, utilizando Doppler colorido, da cadela n° 5.....62
- Figura 31:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de resistividade do ovário esquerdo da cadela n° 5. Botucatu, 2008.....
- Figura 32:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de pulsatilidade do ovário esquerdo da cadela n° 5. Botucatu, 2008.....
- Figura 33:** Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e velocidade máxima do ovário esquerdo da cadela n° 5. Botucatu, 2008.....

Figura 34 A, B, e C - imagem ultra-sonográfica do Doppler colorido do ovário da cadela nº 4, A) no dia da ovulação, B) dois dias depois da ovulação e C) quatro dias depois da ovulação.62

LISTA DE ABREVIATÖES

cm		Centímetros
S		Segundo
VPS		Velocidade do pico sistólico
mm		Milímetro
mL		Mililitro
IR		Índice de resistividade
IP		Índice de pulsatilidade
ng		Nanograma
MHz		Megahertz
Kg		Quilograma
PRF		Frequência de repetição de pulsos
SRD		Sem raça definida

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS	v
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE ABREVIACÕES	xi
RESUMO	13
ABSTRACT	14
1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 Fisiologia Reprodutiva de Cadelas	17
2.2 Ultra-sonografia dos ovários	19
2.3. Ultra-sonografia Dúplex Doppler do ovário	25
3. OBJETIVO GERAL	29
3.1 Objetivos Específicos	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1. Animais	30
4.2. Avaliação Ultra-sonográfica	30
4.3. Avaliação de progesterona sérica	32
4.4. Exame de citologia vaginal	32
4.5. Análise Estatística	32
5. RESULTADOS	34
6. DISCUSSÃO	64
7. CONCLUSÕES	72
8. BIBLIOGRAFIA	73
9. APÊNDICE	79

BICUDO, A.L.C. Avaliação ultra-sonográfica convencional e dopplerfluxométrica de ovário de cadelas, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008. 78p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina.

Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Nenhuma avaliação clínica ou a receptividade à cobertura pelo macho é suficientemente rigorosa para detectar com exatidão a ocorrência e o dia das ovulações nas cadelas. Algumas cadelas podem ovular no quinto dia do ciclo estral, enquanto outras, ovulam mais tardiamente, como no trigésimo dia. A técnica mais recente para determinar a ovulação na cadela é a exploração ovariana por ultra-sonografia. Portanto, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o grau de confiabilidade e rigor do exame ultra-sonográfico, em modo B e a possibilidade de avaliações dopplerfluxométricas de artérias intra-ovarianas para uma detecção segura da ovulação nas cadelas. Para tanto foram utilizadas 5 cadelas, SRD, adultas, com peso de até 10 Kg e em início de fase folicular do ciclo estral. Durante a fase de proestro e estro foram realizados exames ultra-sonográficos (Logic 3, GE) com transdutor de 10Mhz, seriados, com no máximo 48 horas de intervalo. Foram realizados cortes sagitais e transversais para se detectar e mensurar os folículos ovarianos. A partir da detecção do colapso folicular ou da substituição da imagem circunscrita anecóica de parede regular por uma estrutura hipoecogênica de contornos irregulares foi monitorado o início de formação luteal. Na fase luteal do ciclo foram realizadas mensurações dos corpos lúteos. Foram realizadas também imagens com o doppler colorido e espectral. Para avaliação do *Doppler* espectral o cursor foi colocado sobre a artéria ângulo insonação $\leq 60^\circ$, procedendo-se a avaliação da velocidade máxima do pico sistólico (VPS), dos índices de resistividade (**IR**) e pulsatilidade (**IP**). Foi realizada uma análise descritiva dos resultados obtidos. Pela imagem ultra-sonográfica convencional foi possível detectar 100% dos ovários das cadelas estudadas, possibilitando acompanhar o desenvolvimento folicular, colapso e formação de corpo lúteo em 85,7% dos folículos. A presença de corpos lúteos foi identificada em 100% das cadelas. A média da velocidade máxima do pico sistólico foi de 26,41cm/s, observada desde 120 horas até 24 horas após a ovulação. O IR apresentou declínio no dia da ovulação ou 24 horas após, e o seu valor variou de 0,44 – 0,59 neste período. O IP apresentou muitas oscilações durante o proestro e estro, apresentando declínio desde 120 horas antes até 24 horas após a ovulação e seu valor nesse período foi de 0,57-1,1.

Palavras-chave: Ovário; Doppler; folículo; estro; cadelas.

BICUDO, A.L.C. CONVENTIONAL ULTRASOUND EVALUATION AND DOPPLERFLUXOMETRIC ANALYSES OF THE OVARIUM OF BITCHES DURING FOLLICULAR PHASE OF ESTRAL CYCLE. Botucatu, 2008. 78p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho”.

ABSTRACT

No clinical evaluation or the receptivity to the male can be rigorous enough to detect precisely the occurrence and the day of the ovulations in dogs. Some dogs can ovulate on the fifth day of the estral cycle, while others, ovulate later, on the thirtieth day. The latest technique to determine the ovulation in dogs is the ovarian exploration with ultrasound. Therefore, the present work evaluates the degree of dependability and accuracy of the ultrasound examination, in B mode and the possibility of dopplerfluxometric evaluations of intra-ovarian arteries for a safe detection of the ovulation in dogs. Therefore 5 mongrel adult bitches, with weight of up to 10 kg and at the onset of follicular phase, were used. During proestrus and estrus ultrasound examinations (Logic 3, GE) with transducer of 10Mhz were carried out in series with the maximum of 48-hour intervals. Sagittal and transversal cuts were taken to detect and measure the ovarian follicles. From the detection of the follicular collapse or the substitution of the anecoiccircumscribed image of regular wall for a hipoecogenic structure of irregular outline was monitored the beginning of luteal formation. In the luteal phase of the cycle measurements of the luteum bodies were carried out. Images with the spectral doppler had been carried also through colorful and. For evaluation of the spectral Doppler the cursor was placed on the artery angle insonation = 60°, proceeding it evaluation from the maximum speed of the systolic peak (SSP), of the resistivity rate (RR) and pulsatility rate (PR). A descriptive analysis of the results was carried out. For the conventional ultrasound image it was possible to detect 100% of the ovarius of the studied dogs, making possible to follow the development of the follicle, collapse and formation of luteum body in 85.7% of the follicles. The presence of luteum bodies was identified in 100% of the dogs. The average of the maximum speed of the systolic peak was of 26.41cm/s, observed since 120 hours until 24hours after the ovulation. RR presented decline on the day of the ovulation or 24 hours, and its value varied 0.44 - 0.59 in this period. The PR presented many oscillations during proestrus and estrus, presenting decline from 120 hours before until 24horas after the ovulation and its value in this period was of 0.57-1.1.

Key words: ovarian, Doppler, follicle, oestrous, bitch

1. INTRODUÇÃO

A ultra-sonografia é uma modalidade de diagnóstico por imagem introduzida na rotina da medicina humana e na medicina veterinária pela área de obstetrícia e ginecologia, sendo que o primeiro trabalho científico foi publicado por Donald em 1957 em ginecologia humana. A exemplo da medicina humana, o sistema reprodutor é um dos mais avaliados ultra-sonograficamente, tanto nos cães e gatos, como nas outras espécies de animais (HAYER et al., 1993; JARRETTA, 2004).

Os ovários de cadelas e gatas são estruturas difíceis de serem avaliadas ao exame ultra-sonográfico em virtude do seu tamanho pequeno, da sua ecogenicidade ser semelhante a dos tecidos adjacentes, por serem envoltos por uma bolsa de gordura e por sua localização superficial (ENGLAND et al., 2003). A dificuldade na localização e avaliação ultra-sonográfica dos ovários vai depender também da fase do ciclo estral em que o animal se encontra. Durante o anestro os ovários são menores e não apresentam estruturas em seu parênquima, portanto, a sua ecogenicidade vai se apresentar mais homogênea e semelhante aos tecidos adjacentes. Nas outras fases do ciclo estral, os ovários podem ser localizados com maior facilidade devido ao aparecimento dos folículos em crescimento e corpos lúteos (JARRETTA, 2004).

Muitas vezes o gás presente em alças intestinais localizadas próximas aos ovários causa uma reverberação da imagem, dificultando ainda mais a realização de um exame ultra-sonográfico mais detalhado. Portanto, o preparo prévio do animal, como jejum, ingestão de líquido e administração de substâncias que auxiliam na eliminação dos gases são medidas muito importantes na realização de um exame mais apurado.

Nenhuma avaliação clínica, como edema vulvar, a quantidade e o aspecto do corrimento vulvar, o sinal de Amantea ou a receptividade à cobertura pelo macho é suficientemente rigorosa para detectar com exatidão a ocorrência e o dia da ovulação (ENGLAND & CONCANNON, 2002; FONTBONE & MALANDAIN, 2006).

É reconhecido não existir confiabilidade na pré-determinação do dia da ovulação nas cadelas e, por consequência em uma data de cruzamento previamente estabelecida. Algumas cadelas podem ovular bastante cedo, no quinto dia do ciclo

estral, enquanto outras ovulam mais tardiamente, como no trigésimo dia. Foi demonstrada a ocorrência de variações significativas em períodos estrais sucessivos na mesma fêmea, em cerca de 44% das cadelas (BADINAND & FONTBONE, 1993).

A técnica mais recente para determinação da ovulação na cadela é a exploração ovariana por ultra-sonografia. Infelizmente a interpretação da imagiologia ultra-sonográfica dos ovários das cadelas, próximo a esse processo, é mais difícil de que em outras espécies. Estudos anteriores demonstraram que o aspecto dos folículos ovarianos, imediatamente antes e logo após a ovulação, é muito semelhante (ENGLAND et al., 2003). Alguns folículos não colapsam no momento da ovulação (HAYER et al., 1993; YEAGER & CONCANNON, 1996) e além disso, é freqüente permanecerem folículos não ovulados após este processo (WALLACE et al., 1992).

A ultra-sonografia convencional foi bem estabelecida na medicina humana como técnica para avaliar o ovário e útero. Com a modalidade de Doppler colorido e espectral essa investigação foi facilitada, pois possibilitou a detecção mais rápida dos vasos, bem como as velocidades do fluxo sanguíneo nessas regiões. Essa evolução pôde auxiliar na detecção de diferentes impedâncias no fluxo sanguíneo entre mulheres férteis e inférteis (BOURNE et al., 1989) e analisar a receptividade da mulher à fertilização *in vitro* (STEER, et al. 1992).

As dificuldades em se detectar o momento da ovulação e o dia mais específico para a fertilização nas cadelas são muitas, portanto, a existência de uma sinalização de que a dopplervelocimetria, a exemplo do que ocorre nas mulheres, possa ajudar nesse empasse criou a idéia desse trabalho.

Em vista da literatura consultada, ainda hoje, o exame ultra-sonográfico do ovário em cadelas, apesar de muito solicitado, é uma prática que necessita de avaliações mais detalhadas, com acompanhamento seriado e associação com outros exames complementares. Portanto, o objetivo geral desse trabalho foi o de avaliar o grau de confiabilidade e rigor do exame ultra-sonográfico, em modo B e a determinação da dopplerfluxometria das artérias intra-ovarianas, para uma detecção segura da ovulação nas cadelas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Fisiologia Reprodutiva de Cadelas:

As cadelas são monoéstricas e possuem ovulação espontânea. A atividade sexual desses animais é controlada pelos hormônios protéicos e esteróides, dividindo o ciclo estral em quatro fases. O anestro é referido como período em que não há atividade ovariana. O proestro é caracterizado pelo alto nível de estrógeno e compreende o período em que a fêmea apresenta sinais de atração para o macho; é o período no qual os folículos ovarianos estão em crescimento. O estro compreende a fase na qual a fêmea aceita o macho, há aumento dos níveis séricos de progesterona com a ocorrência das ovulações, em geral, observada 24 a 72 horas após o pico de hormônio luteinizante (LH). No diestro há o domínio da progesterona e presença de corpos lúteos (Concannon et al., 1989).

A determinação da ovulação permite um melhor controle reprodutivo na fêmea, porém, a correlação entre as modificações físicas e as mudanças comportamentais entre o estro e o momento das ovulações não são precisas nas cadelas (GIER, 2006).

O uso de dosagens hormonais para reconhecimento da ovulação é bastante discutido. A onda pré-ovulatória do LH e a secreção do FSH estão intimamente relacionadas à ocorrência da ovulação, porém, a correlação entre essas gonadotrofinas é complexa, já que ocorre uma regulação diferencial da secreção de FSH e LH nas cadelas (REYNAUD et al., 2005).

A dosagem de LH nas cadelas não é realizada rotineiramente, é dispendiosa e consome tempo, o que explica o fato de muitos pesquisadores optarem pela mensuração da progesterona sérica, para estimativa da ovulação. Uma concentração plasmática de progesterona de 2 ng/ml (16 nmol/L) correspondente ao dia 0 da onda pré-ovulatória de LH (KUSTRITZ, 2001; LOFSTEDT, 2004; GIER, 2006; REYNAUD et al., 2005).

A realização de exames citológicos seriados, desde o início do proestro, pode facilitar a determinação da onda pré-ovulatória de LH, segundo Feldman & Nelson (2004); uma contagem de 80% de células superficiais determina a concentração

máxima de estrógeno (dia -2 da onda pré-ovulatória de LH). A mudança abrupta dos tipos celulares para as parabasais e intermediárias indica o primeiro dia do diestro, correspondente ao dia +7 da onda pré-ovulatória de LH. O exame citológico é de fácil realização, porém, não determina com acurácia o dia da ovulação. A combinação das concentrações de progesterona, do LH, análise das células do epitélio vaginal e endoscopia vaginal são essenciais para facilitar a determinação da ovulação de uma forma mais confiável (ENGLAND & CONCANNON, 2002).

Na cadela os ovócitos liberados medem $82,4 \pm 0,6 \mu\text{m}$ e apresentam-se em um estado imaturo, no início da primeira divisão meiótica, ainda em estado de vesícula germinativa (VG), sendo também denominados de ovócitos primários, não podendo ser fecundados imediatamente após a sua liberação (ENGLAND & CONCANNON, 2002).

Ovócitos em estágio de VG estão presentes nas tubas uterinas, 44 horas após a ovulação, ou 2 dias após a onda pré-ovulatória de LH. A fase de metáfase I ocorre dentro de 44 a 48 horas da ovulação, sendo caracterizada pela extrusão do primeiro corpúsculo polar. Na metáfase II, há a formação completa do segundo corpúsculo polar, observada 54 horas após a ovulação (LUVONI et al., 2006). A maturação nuclear nas cadelas esta completa após 48 a 72 horas das ovulações, na presença de elevados níveis de progesterona (CONCANNON et al., 1989; REYNAUD et al., 2005), quando os ovócitos atingem a porção média das tubas uterinas.

Concannon & Verstegen (2005) descreveram a maturação ovocitária completa; nesse estudo a ocorrência das ovulações foi observada após 60 horas do surgimento da onda pré-ovulatória de LH, ou seja, no final da fase do proestro até a metade do estro. Houve uma correlação entre a ocorrência da ovulação e as alterações de comportamento, entretanto, a duração do proestro e do estro pode ser diferente entre os indivíduos o que dificulta a aplicação deste conceito. O processo da ovulação na maioria das cadelas completa-se com 24 horas, podendo em algumas fêmeas se completar em apenas 12 horas (FONTBONE & MALANDAIN, 2006).

2.2. Ultra-sonografia dos ovários

Os ovários dos carnívoros domésticos são pequenos e variam de forma, apresentando-se de ovais a achatados. Eles medem cerca de um a dois centímetros em seus maiores eixos. Cada um deles se encontra próximo do pólo caudal - cerca de 1 a 2cm do rim correspondente ou mesmo em contato com este. O ovário direito está localizado entre o duodeno e a parede abdominal lateral e o ovário esquerdo se relaciona lateralmente com o baço. Imagem dos ovários é melhor visibilizada com a cadela em estação, após tricotomia adequada da parede abdominal lateral, ou em decúbito dorsolateral, com o transdutor posicionado na região abdominal ventrolateral. A superfície ovariana pode apresentar proeminências que são os folículos que se projetam, na dependência da fase do ciclo estral em que a fêmea se encontra (ENGLAND et al., 2003; JARRETTA, 2004).

Imagens ultra-sonográficas dos ovários e a detecção da ovulação foram realizadas por INABA et al., (1984) apesar de seus achados terem sido questionados, devido ao tamanho e posição das imagens descritas (ALLEN & DAVIES, 1984).

Durante o anestro, os ovários não são detectados com precisão mas, geralmente, nessa fase eles são uniformes e possuem ecogenicidade semelhante ou discretamente maior do que o córtex renal. No entanto, podem se apresentar hipoeecogênicos com áreas anecogênicas que representam folículos menores (FONTBONE & MALANDAIN, 2006).

Nas fêmeas em proestro a forma dos ovários é visibilizada com maior facilidade e com frequência numa posição mais caudo-ventral em relação aos rins. Contém diversos folículos pequenos, circulares, anecóicos, rodeados por uma parede ecogênica muito fina com dimensões inferiores a um milímetro (FONTBONE & MALANDAIN, 2006).

No final do proestro, durante o período pré-ovulatório, o tamanho dos ovários aumenta e devido ao considerável volume de líquido anecogênico no interior dos folículos, estes tornam-se mais perceptíveis. Nesta fase, ocorre a luteinização dos

folículos durante a qual produzem uma pequena quantidade de progesterona. Em termos ultra-sonográficos, as paredes foliculares adquirem maior espessura, cerca de um milímetro. Consoante ao tamanho da raça, as dimensões dos folículos pré-ovulatórios variam entre seis a nove milímetro; em geral, consistem de estruturas circulares, anecogênicas que quando em número considerável dentro do mesmo ovário podem parecer achatadas e aglomeradas. Normalmente, a ultra-sonografia subestima o número de folículos (FONTBONE & MALANDAIM, 2006).

Muitos relatos têm indicado que a ovulação em cadelas ocorre dentro de um ou dois dias após o início do estro (EVANS e COLE, 1931; SMITH e MCDONALD, 1971; PHEMISTER et al., 1973). Esta informação foi obtida por exames de ovários removidos por laparotomia ou necropsia em vários estágios do ciclo estral. Wildt et al., (1977) usaram a laparoscopia para observar o desenvolvimento folicular e ovulação seqüencialmente.

England e Allen (1989) decidiram marcar os ovários, para isso, foi usada uma cadela Labrador de 13 meses de idade na qual foram ligadas duas esferas de metal de 8mm aos seus ovários por laparotomia. A ultra-sonografia foi realizada duas vezes por semana, com transdutor linear de 7,5MHz para monitoramento do desenvolvimento folicular. Os exames confirmaram as observações de Wildt et al., (1977), ou seja, o tamanho dos folículos não se alterou significante até o dia 7 do ciclo, após esse dia foi observado um grande aumento de tamanho. Um espessamento da parede folicular foi observado do décimo dia em diante, quando a luteinização dos folículos pré-ovulatórios ocorreram. As ovulações não foram detectadas porque não foi verificado colapso total dos folículos. Esses autores concluíram que as imagens ovarianas são de valor limitado, podendo ocorrer vários problemas envolvendo a localização dos ovários, particularmente do ovário direito, havendo ainda, necessidade de uma tricotomia no flanco do animal.

Cadelas com idade entre três meses até o primeiro estro foram avaliadas por meio de exames ultra-sonográficos e exames histológicos; nenhum folículo foi visibilizado ao ultra-som e somente pequenos folículos foram observados nos exames histológicos. Os primeiros folículos foram detectados 04 dias após o início do proestro e mediram 4 mm de diâmetro. Essas estruturas cresceram até 7 a 11mm antes das ovulações (ENGLAND e ALLEN, 1989a; HAYER et al., 1993).

Em outra pesquisa realizada por esses mesmos autores (ENGLAND e ALLEN, 1989b) foi observado um crescimento folicular de 3,7 a 6,9 mm entre o pico de LH e cinco dias antes, sendo que essas estruturas cresceram até uma média de 7,5mm em dois dias após o pico de LH. Porém, folículos de 7 até 11 mm foram visualizados em três cadelas, em estro, que foram submetidas à necropsia posteriormente.

De acordo com Jarreta (2004), as ovulações podem ser observadas com a realização de exames ultra-sonográficos diários em modo B, e são caracterizadas pela diminuição do número e tamanho dos folículos de um dia para o outro.

Matton e Nyland (2002) detectaram ovários arredondados após a ovulação e as cadelas ainda apresentavam estruturas císticas semelhantes a folículos, porém, de maior ecogenicidade e menor tamanho, podendo ser folículos que não ovularam, corpos hemorrágicos, corpos lúteos císticos ou folículos luteinizados. A detecção da ovulação, por meio de exame ultra-sonográfico, nesse estudo, foi confirmada pela dosagem hormonal em 90% das cadelas e pela citologia vaginal em todas as fêmeas.

A dificuldade em se detectar a ovulação por meio do exame ultra-sonográfico em cadelas está no fato dos folículos pré e pós ovulatórios serem muito semelhantes em suas características ultra-sonográficas, já que o rompimento folicular não é observado inicialmente; além disso, o corpo lúteo possui áreas cavitárias. Pesquisadores identificaram, na ovulação, uma diminuição no número de folículos e sua substituição por estruturas de mesmo tamanho, porém hipoeecogênicas. A presença desses corpos lúteos pode ser confirmada pela dosagem de progesterona sérica (ENGLAN e ALLEN, 1989; ENGLAND e YEAGER, 1993).

A avaliação de estruturas ovarianas tais como o desenvolvimento folicular, a ovulação e a presença de corpo lúteo, requer um transdutor de alta resolução e exames diários ao longo do ciclo para a observação de alterações das imagens observadas (Figura 1). Um único exame realizado não fornece informações precisas quanto à condição ovariana (JARRETTA, 2004).

England & Yeager (1993) trabalharam com dinâmica do desenvolvimento folicular em cadelas e obtiveram os seguintes resultados: 87 folículos foram

identificados nos ovários de 10 cadelas. Os ovários foram visíveis em 100% das cadelas no início do proestro; o exame ultra-sonográfico foi mais difícil em uma cadela relativamente obesa, comparada com outros animais. Neste animal não foi possível identificar estruturas confiáveis em todos os exames, embora avaliações seriadas fossem obtidas, com o transdutor setorial de 7,5MHz. Mudança na posição do animal, de quadrupedal para lateral, foi proveitosa para auxiliar a realização das imagens. Os ovários foram mais fáceis de identificar durante o proestro e estro; inicialmente os ovários apresentaram-se hipoecogênicos medindo 12mm x 10mm x 8mm. Houve um discreto aumento no volume ovariano durante o proestro. Os contornos ovarianos mostraram-se lisos antes da onda de LH. No entanto, em todas as cadelas a superfície ovariana tornou-se nodular, como amoras, um a três dias após a onda de LH.

Ainda, segundo England & Yeager (1993) o diâmetro interno do folículo mediu 1-2 mm e não foi possível diferenciar a parede folicular do estroma ovariano. O tamanho folicular aumentou muito no final do proestro e valores máximos de 04 a 06 mm foram alcançados, um dia após a onda de LH. Neste estágio as paredes foliculares ficaram mais espessadas. Entre os dias 1 e 3 após a onda de LH, vários folículos desapareceram em duas observações completas em cada cadela. Aproximadamente 62% dos folículos foram substituídos por áreas de tecido hipoecogênico, sem uma parede identificável, 32% dos folículos não se alteraram e 6% dos folículos não foram identificados subsequentelemente. O diâmetro externo das regiões hipoecogênicas foi o mesmo ou ligeiramente menor que o diâmetro dos folículos.

Um total de 271 exames ultra-sonográficos foram realizados para o estudo do desenvolvimento folicular em cadelas; o ovário esquerdo foi visto em 97% das avaliações e o ovário direito em 96% dos casos. O tamanho dos ovários aumentou gradualmente desde o primeiro dia do proestro até após a onda de LH e ovulação. Durante os primeiros 2 a 3 dias do proestro, os ovários foram vistos como estruturas ovóides caudal aos rins ipsilaterais. Em somente dois animais puderam ser visibilizados os folículos desde o primeiro dia de proestro. Os folículos aumentaram em tamanho desde o início do proestro até a onda de LH. Inicialmente eles apareceram, em todas as cadelas, como estruturas múltiplas, pequenas, anecóicas.

Sinais de ovulação foram observados em apenas duas cadelas, dois dias após a onda de LH e foram caracterizadas por uma alteração abrupta de uma estrutura anecóica vista anteriormente, para uma estrutura hipocóica de forma irregular constituindo o corpo lúteo. Nas outras fêmeas, ruptura folicular não foi detectada, entretanto, estruturas ovarianas anecóicas foram vistas após a onda de LH até o final do estro. Um espessamento gradual da parede antral teve início no dia da onda de LH, caracterizando o desenvolvimento luteal pré-ovulatório. O número de estruturas ovarianas antrais diminuíram significativamente da onda de LH até o primeiro dia do diestro (HAYER et al., 1993).

Em dois momentos após a onda de LH foram identificadas estruturas hipocogênicas no estroma ovariano. O primeiro período ocorreu no dia da ovulação e provavelmente está relacionado a folículos pré-ovulatórios contendo fibrina, líquido folicular e tecido luteal. O segundo período foi detectado 10 dias após a ovulação e associado com uma diminuição no número de corpos lúteos cavitários; este último período provavelmente refletiu a presença de corpos lúteos sólidos e maduros. Entre estes períodos, os ovários continham estruturas com cavidade císticas antrais (ENGLAN e ALLEN, 1989b).

England et al., (2003) monitoraram o desenvolvimento folicular em cadelas e observaram que os ovários hipocóicos tendem a aumentar de tamanho no final do anestro e folículos de tamanho pequenos (1 a 2 mm), preenchidos de líquido podem ser identificados. Essa situação é mantida por 30 dias ou mais, até o início da fase do proestro, quando o número de folículos aumenta.

As modificações ovarianas visíveis ao ultra-som, no momento das ovulações, foram descritas por Yeager e Concannon (1996), que relataram uma aparência óbvia dos folículos cinco dias antes das ovulações; nesse período, os folículos aumentaram em diâmetro, atingindo um tamanho máximo, aproximadamente um dia antes da onda pré-ovulatória de LH. O diâmetro interno dos folículos maiores mediu de 8 a 9 mm e foi constatada uma alteração no seu formato interno, tornando-os menos esféricos. A maioria ou todas as estruturas hipocóicas ou anecóicas observadas nos ovários não desaparecem no momento das ovulações.

Boyd et al., (1993) enfatizaram os problemas associados à avaliação ultra-sonográfica dos ovários de cadelas próximo ao momento das ovulações e concluíram que o uso de um equipamento de qualidade moderada (transdutor setorial de 7,5MHz com e sem “stand off”) podem tornar esse meio de diagnóstico impreciso para detectar a presença ou ausência de ovários em cadelas não castradas, falha em evidenciar o colapso das estruturas foliculares e a transformação gradual em tecido luteal. Por outro lado, quando esses autores utilizaram um transdutor setorial de 9,5MHz conseguiram estimar o momento da ovulação, bem como o colapso folicular. Ainda esses autores descreveram uma dificuldade em visualizar ultra-sonograficamente os ovários quando as estruturas foliculares apresentarem medidas inferiores a 2mm, e na diferenciação dos folículos e corpo lúteos.

Fontbonne e Malandain (2006) monitoraram o estro por meio de exames ultra-sonográficos e análise hormonais em diversas cadelas de 36 raças diferentes e com idade compreendidas entre 9 meses a 8 anos, com o intuito de determinar o momento da ovulação, por via ecográfica. O dia da ovulação foi claramente determinado em 91,7% das cadelas; em quatro fêmeas foram observados contornos ovarianos imprecisos, próximos a ovulação; essas quatro cadelas eram de raças consideradas grandes.

Ainda nos estudos conduzidos por Fontbonne e Malandain (2006) o processo da ovulação na maioria das cadelas foi completado ao final de 24 horas, no entanto, em 14 das 41 cadelas o processo da ovulação terminou em menos de 12 horas. Não foi observada qualquer diferença significativa entre o ovário esquerdo e o direito. As dosagens de progesterona no momento das ovulações revelou-se constante com valores de $6,25 \pm 1.55$ ng/mL. Nesse ensaio a detecção da ovulação através da ultra-sonografia mostrou ser o método clínico mais preciso e a realização de dois exames diários não demonstrou qualquer contribuição adicional e portanto, foi recomendado um exame ultra-sonográfico diário dos ovários.

HAYER et al., (1993) concluíram que a ultra-sonografia pode ser uma ferramenta útil para monitorar o desenvolvimento folicular e luteal, entretanto, devido a luteinização pré-ovulatória que ocorre nas cadelas (CONCANNON et al., 1975; CONCANNON, 1986), há necessidade da visibilização de alterações significativas

na estrutura folicular para se identificar a ovulação pela imagem ultra-sonográfica, modo B.

2.3. Ultra-sonografia Dúplex Doppler do ovário

De acordo com os estudos histológicos, mudanças cíclicas na vascularização ovariana ocorrem em muitas espécies de mamíferos e reflete o estágio funcional das gônadas femininas. Pesquisas na dinâmica do fluxo sanguíneo ovariano têm sido realizadas usando técnicas invasivas como microesferas radioativas, implantação de transdutores de Doppler e fluxômetros eletromagnéticos, entretanto, esses métodos experimentais não são práticos para aplicação nos animais (KOSTER et al., 2001).

O desenvolvimento de aparelhos de ultra-som com Doppler espectral, permitiu a avaliação direta e não invasiva da circulação ovariana durante o ciclo estral. A respeito dos numerosos relatos do uso de Doppler no diagnóstico da função ovariana na mulher, pesquisas semelhantes nos animais são escassas, principalmente no cão (BRANNSTROM et al., 1998; KOSTER et al., 2001).

A ultra-sonografia Doppler permite uma avaliação mais detalhada das características vasculares das estruturas, fornecendo dados qualitativos e quantitativos do fluxo dos vasos sanguíneos. O Doppler colorido proporciona informações quanto a distribuição vascular, intensidade e sentido do fluxo. Já a modalidade de Doppler espectral detecta a velocidade do fluxo sanguíneo segundo o ciclo cardíaco, possibilitando a obtenção dos índices vasculares de resistividade e pulsatilidade (CERRI, et al., 1998).

Na avaliação quantitativa do Doppler espectral da vascularização ovariana, são normalmente utilizados, a velocidade do pico sistólico (SPV), a velocidade diastólica final, o índice de pulsatilidade (PI) e o índice de resistividade (RI) (CERRI, et al., 1998).

Os índices de resistividade e pulsatilidade são considerados parâmetros primários e representam a frequência do espectro Doppler, e são definidos segundo as fórmulas:

$$\text{Índice de Resistividade (IR)} = \frac{V_{\text{máx}} - V_{\text{mín}}}{V_{\text{máx}}} = \frac{S - D}{S} \text{ (POURCELOT, 1974).}$$

$$\text{Índice de Pulsatilidade (IP)} = \frac{V_{\text{máx}} - V_{\text{mín}}}{V_{\text{média}}} = \frac{S - D}{\text{Média}} \text{ (GOSLING e KING, 1975).}$$

As velocidades máxima e mínima são definidas de acordo com as diferenças da frequência Doppler ao longo do ciclo cardíaco. Alguns artigos se referem à velocidade máxima como sendo a velocidade sistólica (S) e a velocidade mínima, como velocidade diastólica e a velocidade média pode ser obtida ultimamente de forma automática no aparelho de US, num dado período do ciclo cardíaco (BOOTE, 2003).

Muitos estudos humanos mostram que há um aumento do fluxo sanguíneo na ovulação (BOURNE et al, 1991; COLLINS et al., 1991). A velocidade do pico sistólico foi maior na fase inicial da ovulação e depois, na fase tardia, diminui (BÄNNSTRÖM et al., 1998,), essas alterações são coincidentes com a elevação do LH (CAMPBELL et al, 1993.) BRÄNNSTRÖM et al., (1998), descreveram que o aumento maior da velocidade do pico sistólico ocorreu no início da fase ovulatória.

Há descrição de que também ocorra uma diferença entre os valores dos índices e das velocidades do fluxo sanguíneo, ou seja, VPS diferentes entre os ovários de uma mesma cadela, e sugerem que isso possa ocorrer pelo fato dos ovários desenvolverem estágios individuais (Koster et al., 2001).

KURJAK et al., (1991) reportaram que a velocidade do fluxo da artéria ovariana humana é detectável quando o folículo dominante alcança o valor de 12 a 15mm. O RI é de 0,54 e há um decréscimo no início da fase luteal. Também concluíram que existem mudanças no padrão da velocidade do fluxo sanguíneo da artéria ovariana durante o ciclo menstrual normal, e por essas alterações ocorrerem antes da ovulação, acredita-se que sejam decorrentes da angiogênese e fatores hormonais.

Sladkevicius et al., (1993) estudaram a circulação uterina e ovariana no ciclo normal de mulheres, e verificaram que no ovário dominante, ou seja, o que possui o folículo com maior crescimento, o IP diminui após a rotura folicular, sendo significativamente mais baixo na fase lútea do que na fase folicular.

O IP estará alto quando o fluxo estiver impedido, por exemplo, em um caso de estenose (BOOTE, 2003). Já o índice de resistividade eleva-se proporcionalmente com o aumento da resistência vascular (CERRI et al., 1998).

Ainda em pacientes humanos, se detecta, na região do hilo ovariano, os vasos espiralados e tortuosos, com características de fluxo de alta resistência. A partir do momento que o folículo alcança 10 mm de diâmetro, áreas de vascularização podem ser detectadas no anel folicular. O valor do índice de resistividade (IR) é de 0,54 antes da ovulação e diminuem na ovulação (BOURNE et al., 1991).

O declínio dos valores do IR começam dois dias antes da ovulação, sendo que os valores no momento da ovulação ficam em torno de $0,44 \pm 0,04$. O valor do IR fica em $0,43 \pm 0,04$ logo após a ovulação e permanece ainda baixo por quatro a cinco dias, para depois se elevar atingindo o valor de 0,50, embora, sejam ainda menores do que o encontrado na fase folicular inicial (BOURNE et al., 1991). Essas alterações do IR das artérias do hilo ovariano permitem monitorar, de forma mais segura, o momento da ovulação nos pacientes submetidos à inseminação artificial ou mesmo a fertilização in vitro.

No trabalho desenvolvido por Koster et al., (2001), em cadelas Beagle, a ovulação e início da fase luteal em cadelas são caracterizadas por uma alta velocidade de fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana e baixos valores do IP e IR, e a perfusão máxima reflete o período de alta produção de progesterona. Entretanto, a regressão luteal é acompanhada por um declínio gradual do suprimento sanguíneo com alto IP e IR. Já em cadelas normocíclicas e gestantes existe uma relação causal entre o fluxo sanguíneo e a produção de progesterona.

Esses autores ainda relatam que dois dias depois da ovulação, os valores da velocidade do pico sistólico foram significativamente maiores e o IR e IP foram significativamente menores, sendo que nessa época os valores de IR foram de 0,60 a 0,57, e nesse mesmo período a média máxima da VPS ocorreu 24h depois da ovulação e em torno de 23,89cm/s. O IP apresentou início de queda em torno de 24h antes da ovulação, com valor de 0,60.

Segundo a revisão realizada por Feliciano et al., (2008) a viabilidade gestacional no primeiro terço de gestação em cadelas é verificada mediante a avaliação do fluxo sanguíneo do corpo lúteo. Para esse fim é utilizada a mensuração do pico de velocidade sistólica (PVS) e do índice de resistência (IR) vascular do corpo lúteo. Ainda de acordo com esses autores, os índices foram avaliados em cadelas com a utilização de Doppler pulsado e transdutor de alta resolução. No ovário esquerdo os valores de PVS e IR foram de 30,31cm/s e 0,52 respectivamente; no ovário direito o PVS e o IR mostraram valores de 20,46cm/s e 0,42 respectivamente.

Segundo Tan et al. (1996), analisando as mudanças do fluxo sanguíneo no ovário, durante o ciclo menstrual normal em mulheres, encontraram que o PVS maior ocorre 24h antes a 36hs depois do surgimento de LH, podendo chegar a 23,5cm/s.

A determinação dos valores normais do PVS e do IP em cadelas gestantes requer novas e mais intensas investigações, incluindo pesquisas comparativas entre os índices vasculares de corpos lúteos de cadelas gestantes, não gestantes, com pseudogestação, e no diestro. A falta de trabalhos na espécie canina impede a discussão sobre o assunto (FELICIANO et al.; 2008).

3. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desse trabalho é avaliar o grau de confiabilidade e rigor do exame ultra-sonográfico, em modo B e a possibilidade das avaliações dopplerfluxométricas de artérias intraovarianas, para uma detecção segura da ovulação nas cadelas.

Objetivos Específicos

- Avaliação e mensuração do crescimento folicular e desenvolvimento luteal em ovários de cadelas, por meio de exames ultra-sonográficos convencional seriados.
- Identificação e quantificação com Doppler colorido e espectral dos índice de resistividade, pulsatilidade e a velocidade máxima do pico sistólico da artéria intra-ovariana durante a fase de proestro e estro do ciclo estral de cadelas por meio da dopplerfluxometria seriada.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizadas 05 fêmeas da espécie canina, adultas, sem interesse racial, com peso de até 10 kg e em início da fase folicular do ciclo estral. A determinação do proestro das fêmeas foi determinada por meio da observação das alterações comportamentais, edema de vulva, secreção vaginal sanguinolenta, atração dos machos, exame de citologia vaginal e dosagem de progesterona sérica.

Após identificação da fase de proestro, as fêmeas foram submetidas a exames ultra-sonográficos pelo modo B, Doppler colorido e espectral no máximo a cada 48 horas. Foram também avaliadas a progesterona sérica e citologia vaginal.

Avaliação Ultra-sonográfica

O presente estudo utilizou um equipamento de ultra-som da Marca GE1 modelo LOGIC 3, no Modo-B em tempo real e dúplex Doppler, com transdutor multifrequencial linear de banda variável de 6 - 10 MHz, escolhido de acordo com o porte do animal.

Os animais foram submetidos à tricotomia ampla do abdômen ventral, desde o 10º espaço intercostal até o púbis, e lateralmente, na mesma extensão, até a região dos músculos sublombares. Os animais foram posicionados em decúbito lateral direito (Fig. 2), lateral esquerdo, dorsal e em estação, para facilitar a mensuração dos parâmetros ovarianos. Uma camada de gel² foi espalhada sobre o abdômen para melhor contato entre o transdutor e a pele.

Para evitar artefatos de técnica as fêmeas foram submetidas a um preparo prévio de jejum alimentar de 12h, e foram estimuladas a se movimentar imediatamente antes do exame para facilitar a defecação, melhorando a visibilização das estruturas abdominais.

Durante o exame ultra-sonográfico, no modo-B, foram realizados planos de cortes sagitais e transversais, para detecção dos folículos e obtenção de suas

¹ GE Medical System-

² ULTRA-GEL®Multigel Ltda- São Paulo -SP

mensurações. Após identificação e mensuração dos folículos, medidas do seu eixo maior e volume foram transcritos em fichas individuais com desenho da localização das estruturas nos ovários. A mensuração do eixo maior, em mm e o volume em mL foram obtidos automaticamente pelo equipamento; esse procedimento foi realizado e repetido até o momento do provável colapso do folículo. Após essa data, foram realizadas medidas da parede interna e externa, do provável corpo lúteo, também representado em volume (mL).

Foram acompanhados os maiores folículos dos ovários, por meio do esquema abaixo representado (Figura 3); o acompanhamento folicular foi de no máximo 48h.

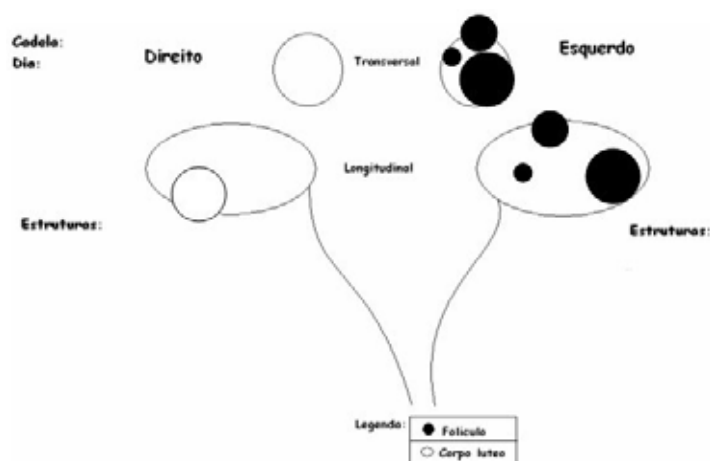


Figura 3 – Esquema representativo das planilhas utilizadas nas mensurações dos folículos e corpos lúteos de cadelas. Botucatu, 2008.

Em seguida ao exame de ultra-som convencional foram realizados exames de Doppler colorido qualitativo para a detecção da artéria intra-ovariana. Neste caso, o cursor foi colocado sobre a artéria com um ângulo de insonação menor ou igual a 60°, para avaliação quantitativa dos índices de resistividade (IR), índice de pulsatilidade (IP) e da velocidade do fluxo sanguíneo no pico sistólico da artéria intra-ovariana (VPS). Para se determinar os índices, foram obtidas três mensurações das velocidades do fluxo sanguíneo, com no mínimo três ondas semelhantes, no mesmo dia, e assim se realizou a média entre elas, para obter os dados de cada dia de cada ovário (Figura 4).

Avaliação de progesterona sérica

As amostras de sangue foram coletadas através de punção da veia jugular, em tubos sem anticoagulante. Foram retirados um volume de aproximadamente 5,0 mL, com seringas de 5,0 mL e agulhas 30x08. O sangue foi centrifugado (centrífuga LS-3 – Celm®) por 10 minutos a 900x g para obtenção do soro. Amostras de soro foram divididas em alíquotas de 1mL, armazenadas em tubos tipo eppendorf e congeladas em freezer até seu processamento.

Para os ensaios de progesterona plasmática foi utilizado KIT comercial de radiomunoensaio em fase sólida, sem extração química ou processo de purificação (Diagnosis Procedure Corporation – progesterone Coat – a –count, Los Angeles, USA) válido para plasma canino (Srikandakumar et al., 1986). As dosagens foram realizadas de acordo com a recomendação do fabricante. A cada 10 tubos de amostra e no final de cada ensaio foi utilizado um tubo controle, em duplicata, com os internos de 0,5 ng/mL e 20 ng/mL, para cálculo dos coeficientes de variação intra-ensaio. As contagens foram realizadas em Contador Gamma. Todas as amostras foram mensuradas em duplicadas.

Exame de citologia vaginal

Os exames citológicos foram obtidos com o uso de escova ginecológica, introduzida no canal vaginal com auxílio de um rinoscópio (haste 7cm) Após a coleta o material foi transferido para lâminas vidro, previamente limpas e identificadas. As lâminas foram coradas através do método de coloração do tipo Panótico (Hematocor®). A identificação dos tipos celulares foi baseada nos critérios adotados por Johnston et al., (2001), baseando-se na porcentagem de células superficiais, sob microscopia de luz (aumento de 200x).

Análise Estatística

Diante dos dados obtidos e de acordo com a assessoria estatística, foi recomendado uma análise descritiva dos resultados.

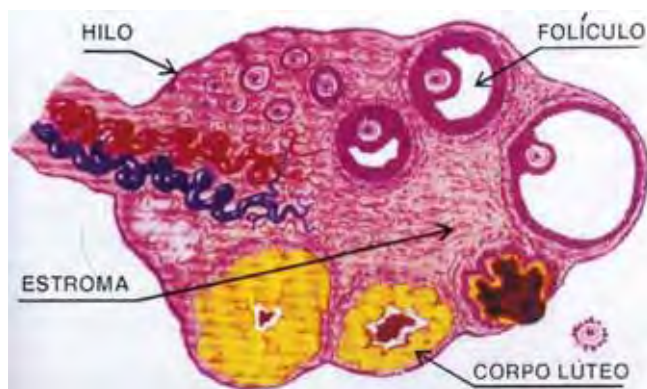


Figura 1: Esquema do processo de crescimento folicular, ruptura e formação de corpo lúteo por CERRI et al., (1998).



Figura 2 A e B: fotografia do posicionamento do animal na mesa de exames e seu aspecto tranqüilo.

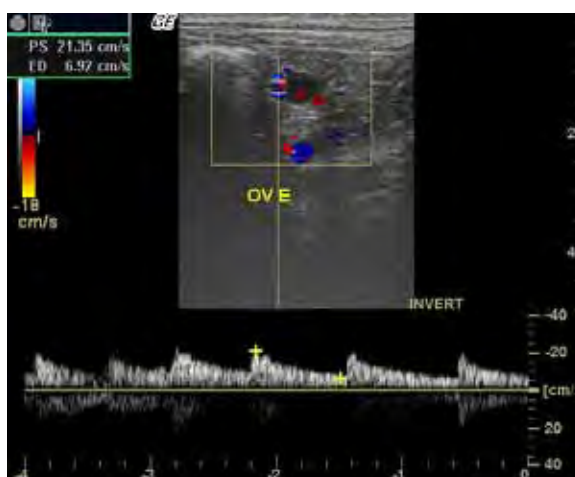


Figura 4. Imagem ultra-sonográfica dúplex Doppler do ovário E da cadela nº 1 na fase de proestro.

5. RESULTADOS

Os resultados individuais referentes às imagens e mensurações foliculares e luteais, velocidade do fluxo sanguíneo máxima do pico sistólico, índice de resistividade (IR), pulsatilidade (IP), dosagem de progesterona sérica, citologia vaginal estão demonstrados em forma de fotografias, gráficos e quadros.

Animal n° 1- *SRD, adulta, 7Kg.*

Essa fêmea foi avaliada por 16 dias a partir do início do proestro. Nos primeiros oito dias de avaliação ultra-sonográfica, foi verificado crescimento folicular (Fig. 5) no ovário esquerdo. Nesse ovário foi evidenciado o crescimento de estruturas anecóicas, de parede regular, que foram consideradas folículos ovarianos. Os dois folículos foram analisados de forma seriada. **No folículo 1**, no final do oitavo dia foi observada diminuição do diâmetro interno do folículo, sendo este fato considerado como ovulação (Fig. 5) e a VPS máximo do período do ciclo foi encontrado no quarto dia de exame 23,18cm/s. No nono dia da avaliação ocorreu a formação do corpo hemorrágico e em seguida do corpo lúteo, confirmado pelo aumento do diâmetro externo da parede e diminuição da diâmetro interno (Fig. 6).

Em relação ao folículo 1, o IR apresentou uma queda significativa no dia da ovulação de 0,63 para 0,59 e variou de 0,54 a 0,72 durante os dias de exames. O IP variou de 0,72 a 1,77 do primeiro ao 14° dia de avaliação e apresentou uma queda no 4° dia e no 7°; e 10° dia (Quadro 1, fig. 8 e 9), a velocidade máxima do pico sistólico da artéria intra-ovariana no período ocorreu no 4º dia, e foi de 23,18cm/s, ou seja há quatro dias do dia provável da ovulação (quadro 1, Gráfico 10).

No folículo 2 da cadela n° 1 o crescimento folicular teve seu maior tamanho até o quinto dia de avaliação ultra-sonográfica e no nono dia houve uma diminuição expressiva da estrutura circunscrita apresentando uma queda no 6 e 9 dias, as imagens ultra-sonográficas desse período não foram claras e acreditamos que houve uma luteinização e não uma ovulação, portanto esse folículo não foi considerado nas médias da VPS, IR e IP (Fig. 5 e quadro 2).

No animal nº 1, o ovário direito não foi examinado de forma seriada, pois nas primeiras avaliações foram verificadas medidas extremamente variadas, não correspondendo às avaliações crescentes conforme o esperado.

Quadro 1: Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica, do ovário esquerdo, diâmetro externo do folículo nº 1 (mL/mm) e acompanhamento luteal pelo diâmetro externo da estrutura, IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana da cadela nº 1, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

Dias de avaliação US	P4 ng/mL	Célula superficial (%)	Mensuração do folículo 1 (mL)	IR ovário E	IP Ovário E	Mensuração do folículo 1 (mm)	VPS (cm/s)
01	0,63	41	0,04	0,58	0,84	3,2	17,44
02	-	71	0,03	0,58	1,2	3,2	16,96
03	4,35	83	0,04	0,65	1,24	4,1	22,95
04	-	-	0,10	0,61	1,1	5,2	23,18
05	-	88	0,18	0,54	0,72	6,2	20,30
06	-	96	0,18	0,6	1,13	6,7	20,54
07	-	-	0,18	0,62	1,04	6,2	21,93
08	-	-	0,18	0,63	1,29	6,6	22,43
09	31, 13	76	0,03	0,59	1,49	2,5	18,34
10	28,67	09	0,12	0,59	1,1	5,4	17,74
11	-	-	0,06	0,54	0,81	4,2	19,35
12	-	-	0,06	0,54	0,81	3,9	19,12
13	-	-	0,06	0,72	1,77	4,3	18,03
14	-	-	0,06	0,7	1,2	3,9	17,42
15	-	-	0,04	0,65	1,35	3,9	15,68

Quadro 2: Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica, do ovário esquerdo, diâmetro externo do folículo nº 2 (mL/mm) e acompanhamento luteal pelo diâmetro externo, IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana da cadela nº 1, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

Dias de avaliação US	P4 ng/mL	Célula superficial (%)	Mensuração do folículo 2 (mL)	IR ovário E	IP Ovário E	Mensuração do eixo do folículo 2 (mm)	VPS (cm/s)
01	0,63	41	0,01	0,58	0,84	3,4mm	17,44
02	-	71	0,02	0,58	1,2	3,4mm	16,96
03	4,35	83	0,03	0,65	1,24	4,1mm	22,95
04	-	-	0,07	0,61	1,1	5mm	23,18
05	-	88	0,15	0,54	0,72	5,7mm	20,30
06	-	96	0,12	0,6	1,13	5,3mm	20,54
07	-	-	0,12	0,62	1,04	5,4mm	21,93
08	-	-	0,12	0,63	1,29	5,4mm	22,43
09	31, 13	76	0,06	0,59	1,49	4,6mm	18,34
10	28,67	09	0,04	0,59	1,1	4,3mm	17,74
11	-	-	0,06	0,54	0,81	4,8mm	19,35
12	-	-	0,06	0,54	0,81	4,8mm	19,12
13	-	-	0,06	0,72	1,77	4,8mm	18,03
14	-	-	0,04	0,7	1,2	4,7mm	17,42
15	-	-	0,04	0,65	1,35	4,7mm	15,68

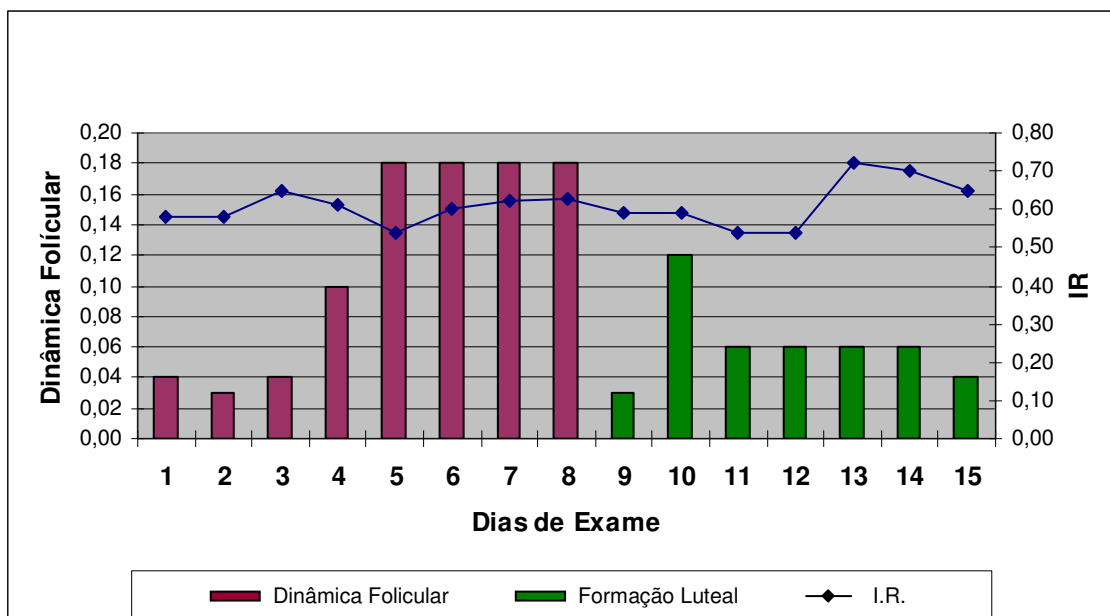


Figura 8: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de resistividade do 1º folículo do ovário esquerdo da fêmea nº 1. Botucatu, 2008.

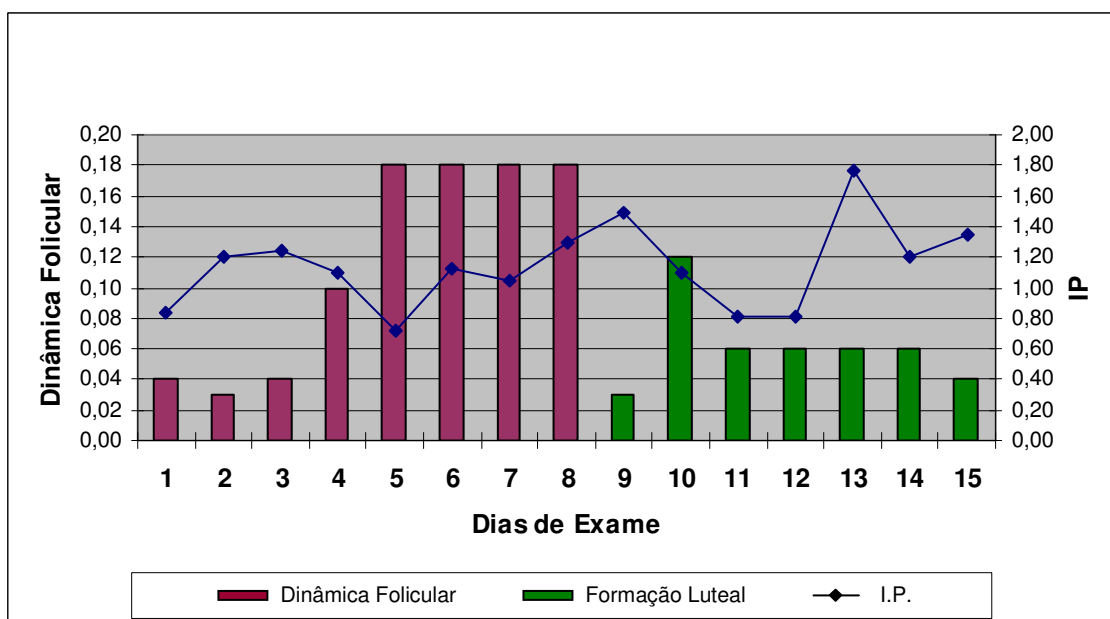


Figura 9: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de pulsatilidade do 1º folículo do ovário esquerdo da fêmea nº 1. Botucatu, 2008.

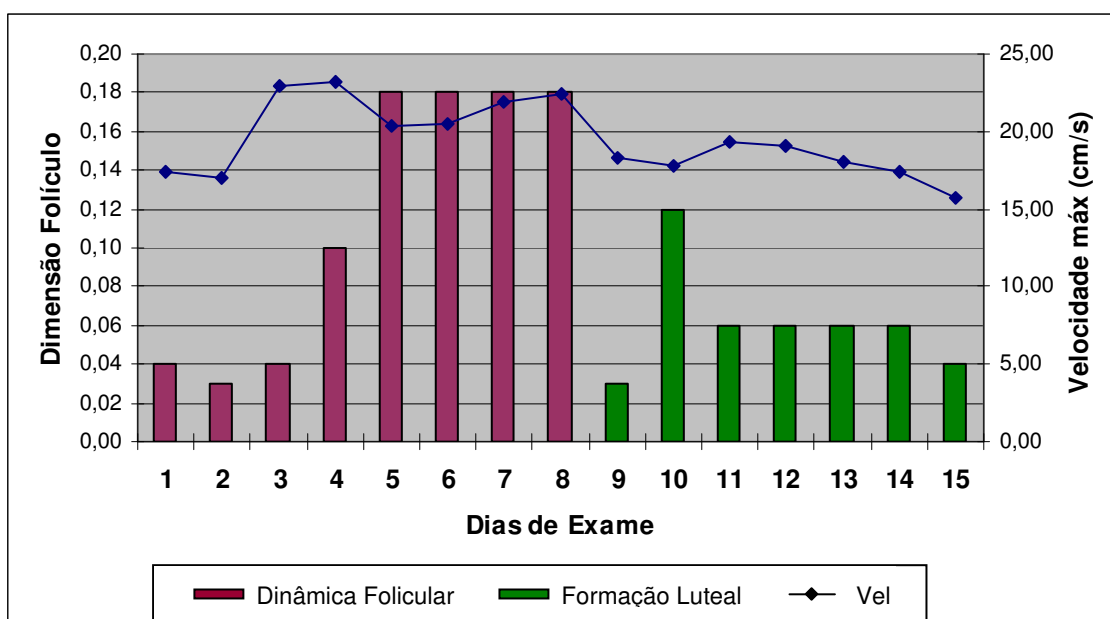


Figura 10: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e velocidade máxima do 1º folículo do ovário esquerdo da fêmea nº 1. Botucatu, 2008.

Figura 5: Acompanhamento da fase folicular até o colapso pela medida de sua parede externa por meio de planos longitudinais e longitudinais oblíquos do animal n° 1. A – dia 1; B – dia 3; C e D – dia 4; E – dia 6; F, G, H e I – dia 8.

Figura 6: Imagens ultra-sonográficas do início do acompanhamento luteal do animal n° 1. A – dia 9 em plano longitudinal. B e C – dia 10 em plano longitudinal oblíquo e transversal.

Figura 7: Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do desenvolvimento luteal do animal n° 1 em planos longitudinais oblíquos e planos longitudinais. **A** – dia 11. **B** – dia 13. **C** – dia 14. **D** – dia 15. **E** – dia 16.

Animal n° 2 – SRD, adulta, 6Kg.

O ovário direito foi avaliado por 16 dias a partir do início do proestro. Foi observado um aumento crescente do volume folicular até o quinto dia de avaliação ultra-sonográfica. (Fig. 11) O colapso folicular não foi visibilizado nesse animal e a formação do corpo hemorrágico, provavelmente, ocorreu no sexto dia de avaliação ultra-sonográfica pela substituição da estrutura circunscrita anecóica de parede regular por outra de dimensões menores e contornos irregulares. O corpo lúteo foi confirmado pelo aumento do diâmetro externo da parede e diminuição do diâmetro interno, no nono dia de avaliação (Fig. 12) A ovulação provavelmente ocorreu nos dias 5, 6 e 7 da avaliação (Quadro 3).

O IR do ovário direito da cadela n° 2 apresentou uma queda no sétimo dia de 0,59 para 0,57 (Fig. 13). O IP apresentou uma queda no 4º dia dos exames, diminuindo para 0,89 no dia 7 (Fig. 14). A velocidade máxima do fluxo sanguíneo, observada no período, foi de 30,31cm/s no 2º dia de exame, sendo que variou de 12,88 a 30,31cm/s, ou seja, 4 dias da provável ovulação (Fig. 15).

Com relação ao ovário esquerdo, também foi avaliado por 16 dias a partir do início do proestro. Foi observado um aumento do volume folicular no primeiro dia de avaliação ultra-sonográfica. O colapso folicular não foi visibilizado nesse animal e a formação do corpo hemorrágico ocorreu no segundo dia de avaliação ultra-sonográfica (Fig. 15). O corpo lúteo foi confirmado pela permanência do diâmetro interno de 0,01ml equivalente 0,2cm x 0,3cm e presença do diâmetro externo espessado a partir do quarto dia de avaliação (Quadro 4, Fig. 16).

O IR do ovário esquerdo da cadela n° 2 apresentou uma queda no 3º dia de exame de 0,56 para 0,53.(Fig 17). Os valores do IP iniciaram sua queda no 3º dia de exame ou seja 24h após a ovulação (Fig. 18). A velocidade do fluxo sanguíneo do pico sistólico foi de 30,50cm/s e ocorreu 24h antes da ovulação (Fig. 19).

Quadro 3: Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica do crescimento folicular por diâmetro externo e avaliação luteal pela medida do diâmetro externo da maior estrutura (mL/mm) do ovário direito, IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana da cadela n° 2, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

Dias de avaliação US	P4 ng/mL	Célula superficial (%)	Mensuração do volume Folículo maior (mL)	IR ovário direito	IP ovário direito	Mensuração do eixo maior do Folículo (mm)	VPS (cm/s)
		80					
01	7,615	92	0,02	0,53	1,5	3	28,34
02	-	92	0,02	0,49	0,99	2,4	30,31
03	19,57	95	0,02	0,56	1,47	2,7	27,44
04	-	-	0,08	0,53	0,92	5,2	27,59
05	33,28	95	0,08	0,59	1,36	5,2	22,65
06	-	-	0,06	0,59	1,07	3,8	20,78
07	23,67	83	0,04	0,57	0,89	4 4	17,90
08	-	-	0,04	0,57	1,12	3,5	18,55
09	22,13	-	0,15	0,56	1,04	6,2	16,34
10	-	-	0,15	0,63	1,07	5,9	18,87
11	-	-	0,14	0,45	0,59	5,5	17,02
12	-	-	0,14	0,52	0,76	5,6	15,21
13	-	-	0,14	0,43	0,52	5,9	13,74
14	34,74	-	0,14	0,51	0,82	5,9	14,63
15	-	-	0,14	0,65	1,1	5,6	12,88
16	-	-	0,14	0,48	0,81	5,6	13,01

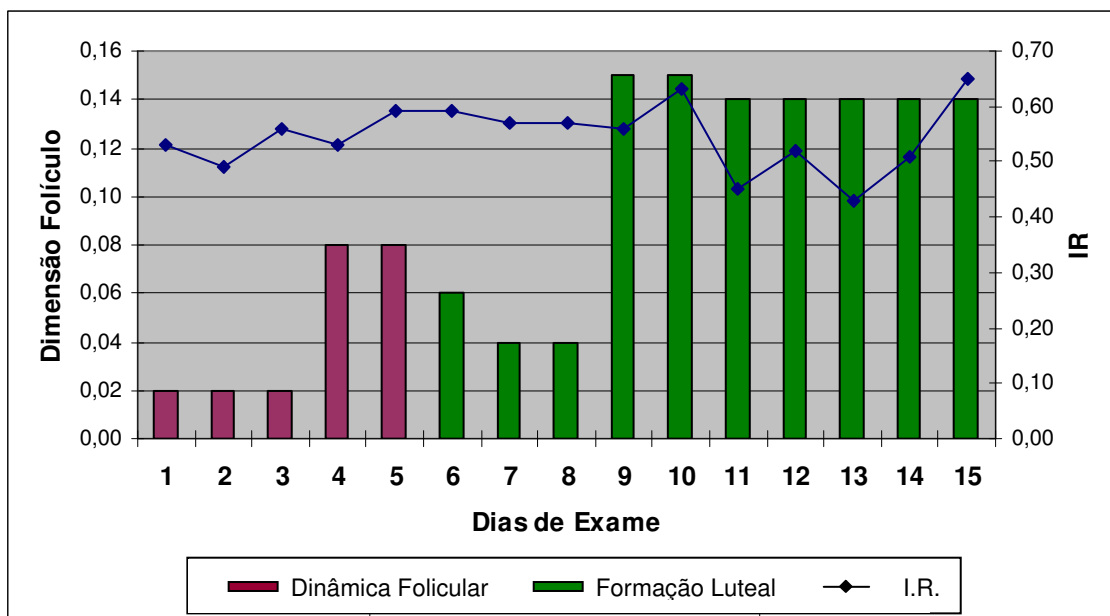


Figura 13: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de resistividade do ovário direito da fêmea nº 2. Botucatu, 2008.

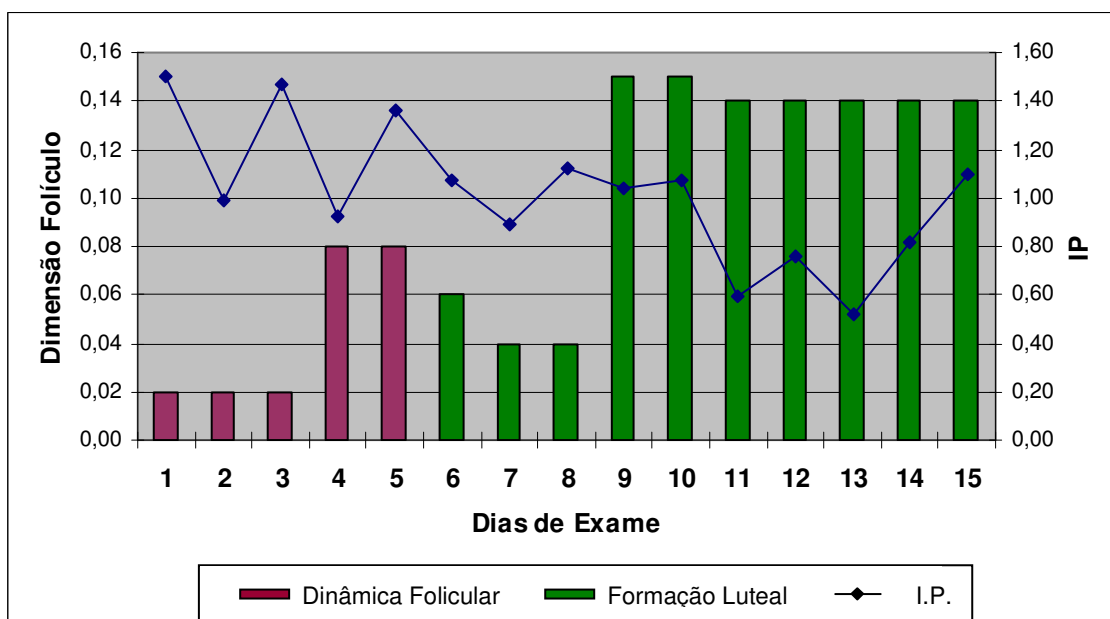


Figura 14: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de pulsatilidade do ovário direito da fêmea nº 2. Botucatu, 2008.

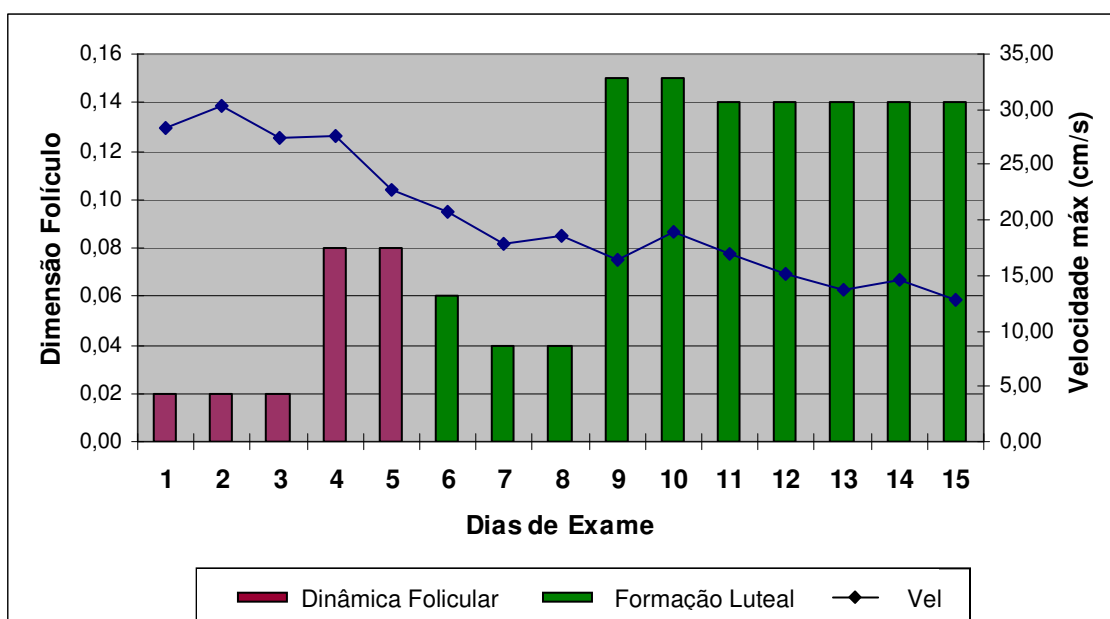


Figura -15: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e velocidade máxima do ovário direito da fêmea nº 2. Botucatu, 2008.

Figura 11: Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do crescimento folicular e desenvolvimento luteal do ovário direito do animal n° 2. **A** – dia 1. **B** – dia 2. **C** – dia 4. **D** – dia 5. **E** – dia 6. **F** – dia 7. (Seta = Folículo principal)

Figura 12: Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do desenvolvimento luteal do ovário direito do animal n° 2. **A** – dia 7; **B** – dia 9; **C** dia 10; **D** – dia 12; **E** dia 14;. **F** – dia 16. (Seta = Formação luteal principal)

Quadro 4: Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica do folículo pela medida do diâmetro externo do maior folículo e avaliação luteal pela medida do diâmetro interno do corpo lúteo (mL/mm) do ovário esquerdo, IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana da cadela n° 2, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

Dias de avaliação US	P4 ng/mL	Célula superficial (%)	Mensuração do volume Folículo maior (mL)	IR ovário Esquerdo	IP ovário esquerdo	Mensuração do eixo maior do folículo (mm)	VPS (cm/s)
		80					
01	7,615	92	0,06	0,53	0,7	4,5	30,50
02	-	92	0,01	0,56	0,8	2,2	30,43
03	19,57	95	0,01	0,53	0,78	2,4	28,93
04	-	-	0,01	0,5	0,7	2,2	23,77
05	33,28	95	0,01	0,5	0,74	2,0	21,55
06	-	-	0,01	0,45	0,67	2,3	20,81
07	23,67	83	0,01	0,42	0,51	2,0	22,85
08	-	-	0,01	0,42	0,51	2,0	18,06
09	22,13	-	0,01	0,43	0,58	2,0	19,16
10	-	-	0,01	0,63	0,71	2,3	19,39
11	-	-	0,01	0,49	0,63	2,3	20,92
12	-	-	0,01	0,48	0,73	2,2	18,45
13	-	-	0,01	0,5	0,65	2,0	14,15
14	34,74	-	0,01	0,47	0,78	2,1	12,72
15	-	-	0,01	0,51	0,59	2,4	17,44
16	-	-	0,01	0,5	0,8	2,2	12,72

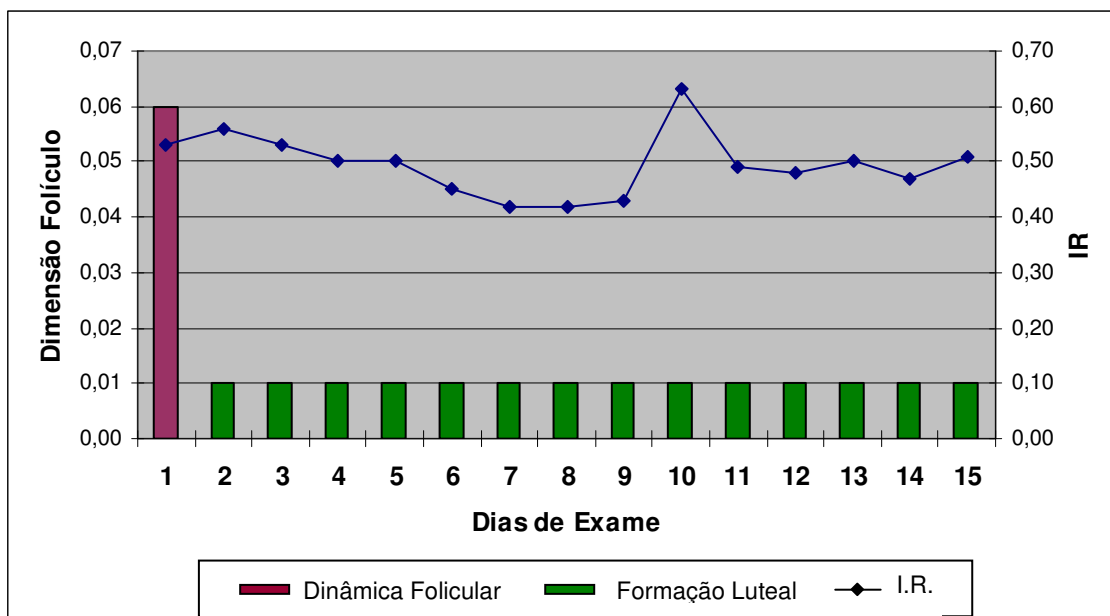


Figura 17: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de resistividade do ovário esquerdo da fêmea n° 2. Botucatu, 2008.

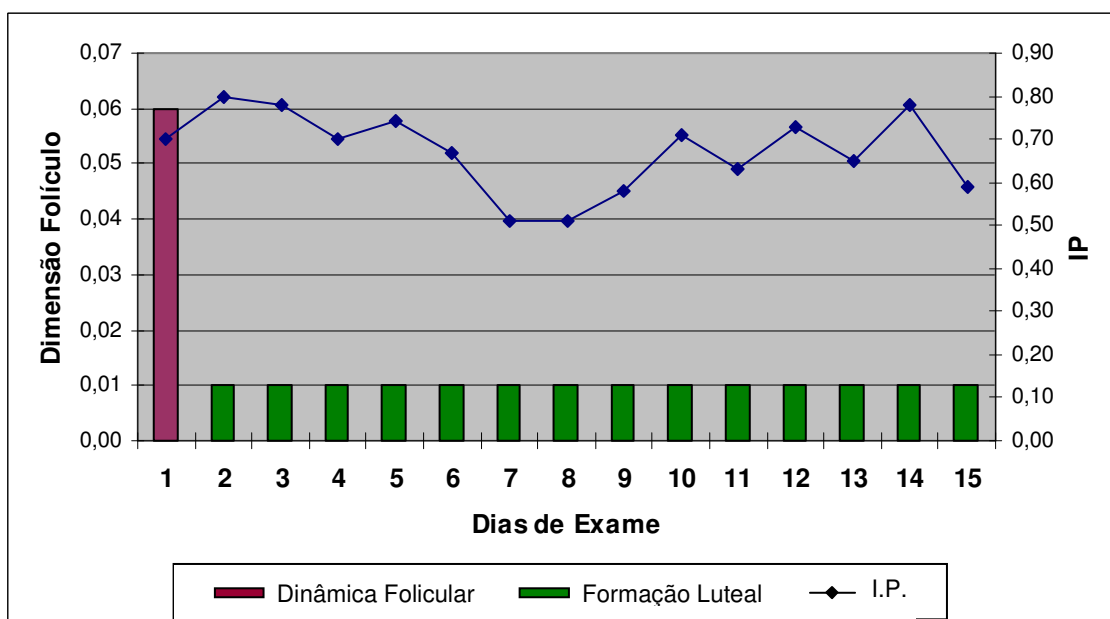


Figura 18: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de pulsatilidade do ovário esquerdo da fêmea n° 2. Botucatu, 2008.

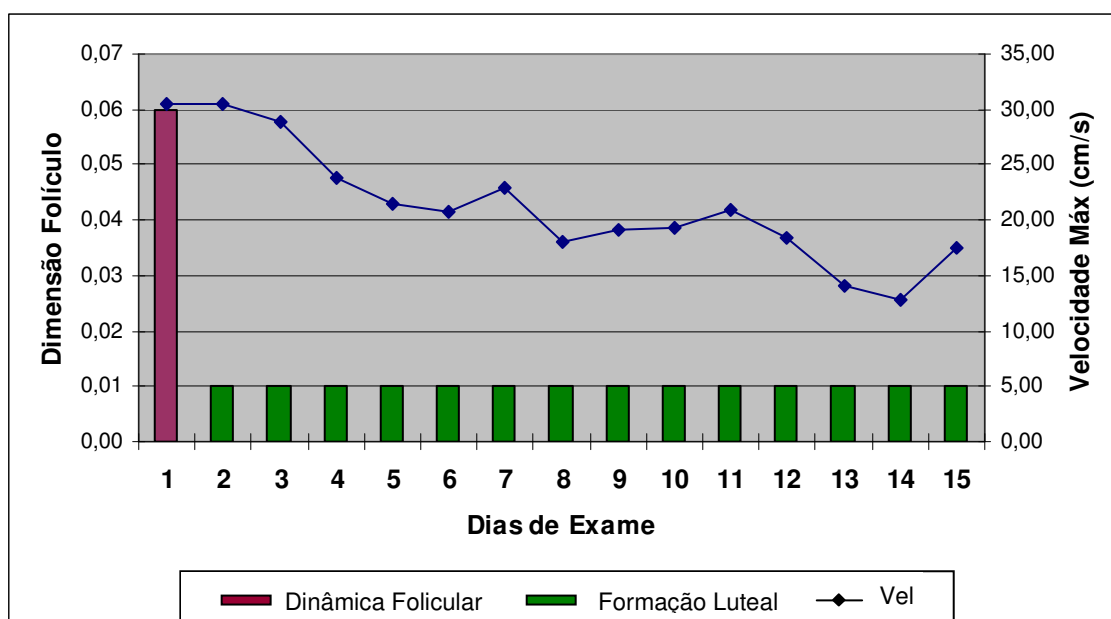


Figura 19: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e velocidade máxima do ovário esquerdo da fêmea nº 2, 2008.

Figura 16: Imagens ultra-sonográficas da dinâmica folicular e desenvolvimento luteal do ovário esquerdo do animal n° 2. **A** – dia 1; **B** – dia 2; **C** – dia 4; **D** – dia 7;. **E** – dia 11, detecção da vascularização intra-ovariana;. **F** – 15.

Animal n° 3 – SRD, adulta, 4Kg.

Foi examinada 8 vezes num período de 10 dias. O crescimento folicular do ovário direito ocorreu até o segundo dia de avaliação ultra-sonográfica (Fig. 20) O colapso folicular não foi visibilizado neste animal, porém, do segundo para o terceiro dia, a estrutura circunscrita anecóica de parede regular desapareceu, sendo substituída por uma estrutura hipoecogênica. Provavelmente a ovulação ocorreu no dia 3 e 4 da avaliação. Neste caso em particular o diâmetro da estrutura externa diminuiu. O IR no segundo dia era de 0,54 e diminuiu para 0,44 no terceiro e quarto dia, ou seja, a redução mais evidente foi no dia da ovulação, no período avaliado o IR variou de 0,46 a 0,58. O IP oscilou e apresentou uma queda no 3º e 7º dia de avaliação. Seu valor foi de 0,86 e diminuiu para 0,57 no terceiro dia e 0,58 no quarto dia (Quadro 5, Fig. 21 e 22) A máxima velocidade do pico sistólico foi de 22,94 cm/s e ocorreu no 2º dia, ou seja 24hs antes do dia provável da ovulação. A velocidade do pico sistólico oscilou de 10,45 a 22,94 cm/s (Fig. 23).

O ovário esquerdo não foi considerado, pois não demonstrou crescimento folicular crescente ou estruturas com tamanho compatível com folículo ovariano. As estruturas inicialmente avaliadas não apresentaram crescimento significativo.

Quadro 5: Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica, medida do diâmetro externo do maior folículo (mL), IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana do ovário direito da cadela n° 3, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

Dias de avaliação US	P4 ng/mL	Célula superficial (%)	Mensuração do volume do Folículo maior (ml)	IR ovário direito	IP ovário direito	Mensuração do Folículo maior (mm)	VPS (cm/s)
01	30,935	64	0,05	0,46	0,5	4	22,09
02	-	-	0,04	0,54	0,86	3,8	22,94
03	32,815	1	0,01	0,44	0,57	2,2	19,18
04	-	-	0,01	0,44	0,58	2,1	20,20
05	-	-	-	-	-	-	
06	-	-	0,01	0,58	1	1,5	20,51
07	-	-	0,06	0,54	0,77	3,8	20,18
08	-	-	0,04	0,48	0,73	3,7	11,51
09	-	-	-	-	-	-	
10	23,675	-	0,04	0,55	1,03	3,6	10,45

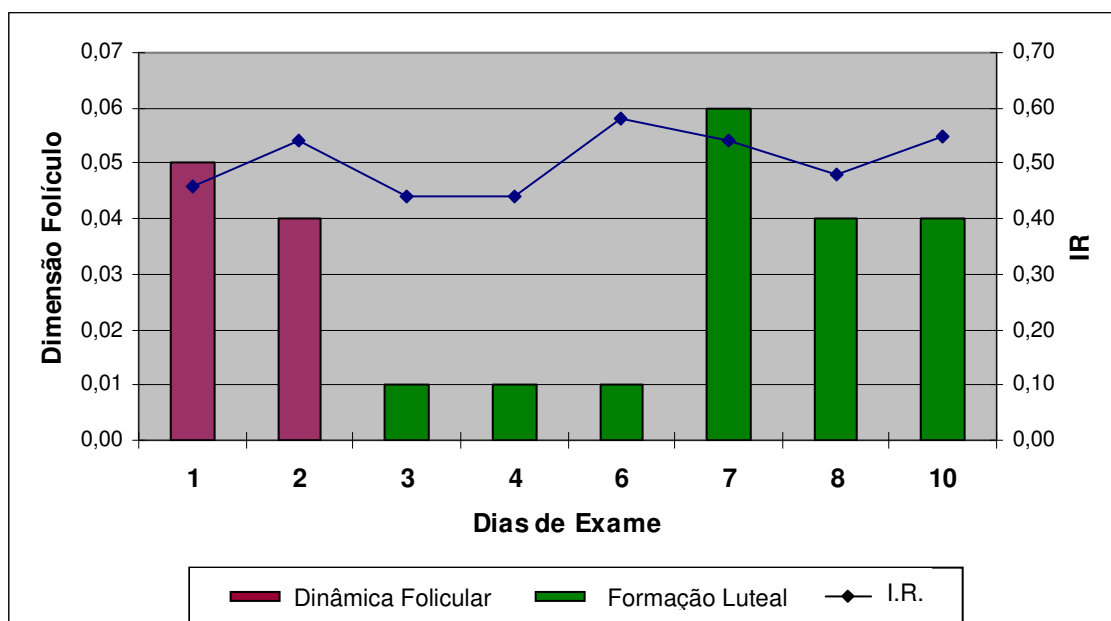


Figura 21: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de resistividade do ovário direito da fêmea n° 3. Botucatu, 2008.

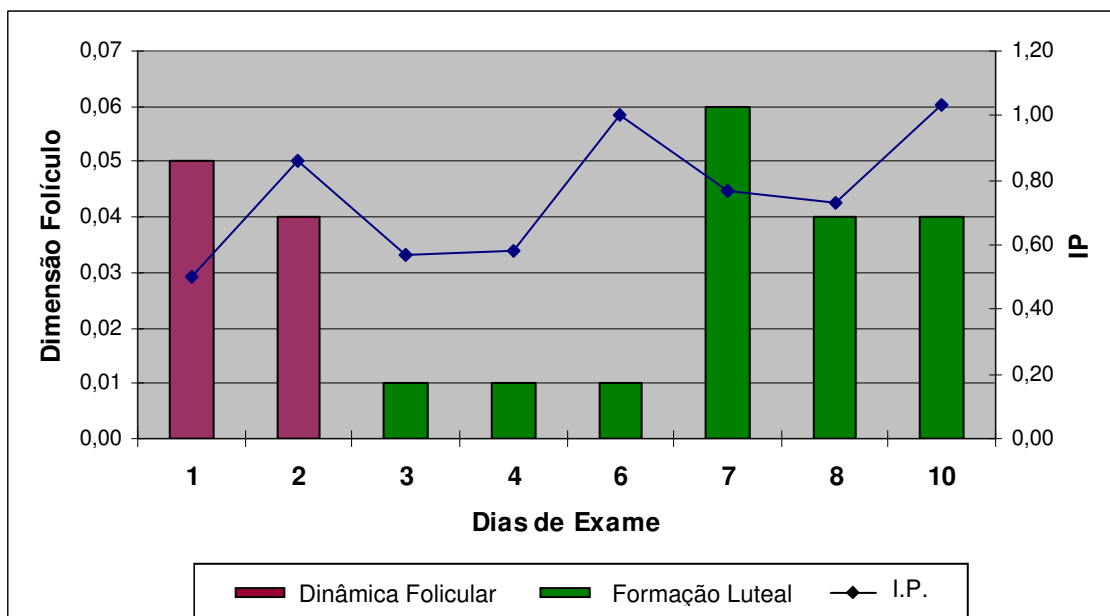


Figura 22: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de pulsatilidade do ovário direito da fêmea n° 3. Botucatu, 2008.

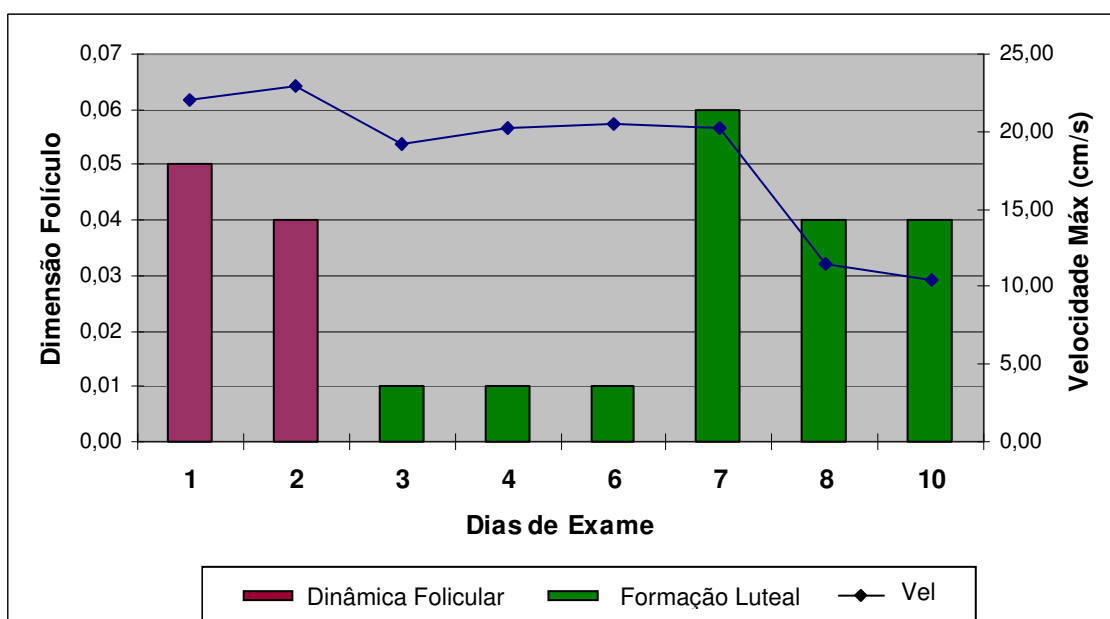


Figura 23: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e velocidade máxima do ovário direito da fêmea n° 3. Botucatu, 2008.

Figura 20: Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do crescimento folicular e desenvolvimento luteal do animal nº 3. **A** – dia 1; **B e C** – dia 2; **D** – dia 3; **E** – dia 4 em planos longitudinais e; **F** – dia 6; **G** – dia 8; **H** – dia 10 em planos transversais e longitudinais oblíquos.

Animal nº 4- SRD adulta, 8 Kg

Foi examinada em dias alternados, completando 11 avaliações. No ovário direito foi verificado crescimento folicular até o quarto dia da avaliação. No quinto dia, a estrutura circunscrita anecóica foi substituída por uma estrutura hipoecogênica (Fig. 24), e a provável ovulação ocorreu no quinto dia das avaliações. O IR no ovário direito variou de 0,45 a 0,58, durante as avaliações, e apresentou o início de declínio no sexto dia da avaliação, diminuindo para 0,5 e 0,45 no sexto e sétimo dia respectivamente, e a redução do valor foi mais definida 24h depois da ovulação. (Fig. 25) O IP variou de 0,8 a 1,67 apresentando uma queda significativa no 2º e 5º dias. A máxima velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana foi de 18,10cm/s e ocorreu no 5º dia, mesmo dia da provável ovulação. (Quadro 6, Fig. 26 e 27).

No animal nº 4, os exames do ovário esquerdo não foram considerados uma vez que os folículos não se mostraram totalmente visíveis, com imagens pouco definidas o que dificultou as medidas no decorrer da avaliação diária.

Quadro 6: Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica, medida do diâmetro externo do maior folículo (mL), IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana do ovário direito da cadela n° 4, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

Dias de avaliação US	P4 ng/mL	Célula superficial (%)	Mensuração do volume do maior folículo (mL)	IR ovário direito	IP ovário direito	Mensuração do maior folículo	VPS (cm/s)
-	-	36	--	-	-	-	-
01	1,095	47	0,02	0,5	1,33	2,8	16,12
02	-	40	0,02	0,54	1,04	2,7	14,36
03	-	61	0,08	0,54	1,25	4,4	18,05
04	-	61	0,09	0,55	1,25	5,3	16,41
05	-	51	0,03	0,55	0,8	3,3	18,10
06	-	90	0,02	0,5	1,25	3	16,48
07	13,495	80	0,12	0,45	1,67	4,1	15,04
08	-	80	-	-	-	-	-
09	33,155	80	0,14	0,58	1,65	4,5	14,70
10	29,03	13	-	-	-	-	-
11	-	14	0,015	-	1,6	6,2	12,56

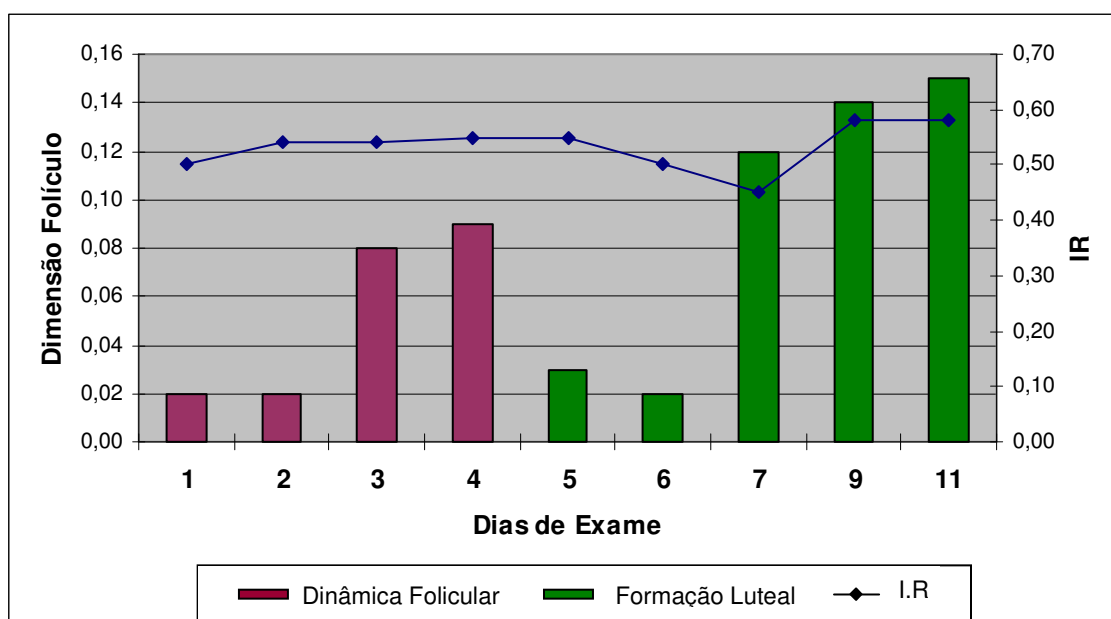


Figura 25: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de resistividade do ovário direito da fêmea n° 4. Botucatu, 2008.

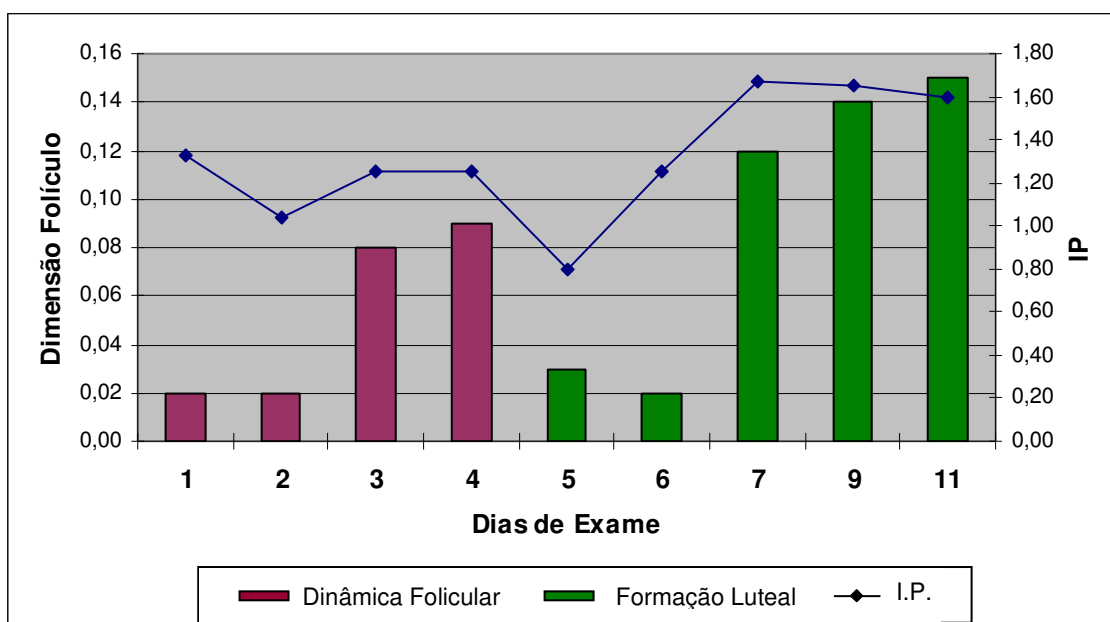


Figura 26: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de pulsatilidade do ovário direito da fêmea nº 4. Botucatu, 2008.

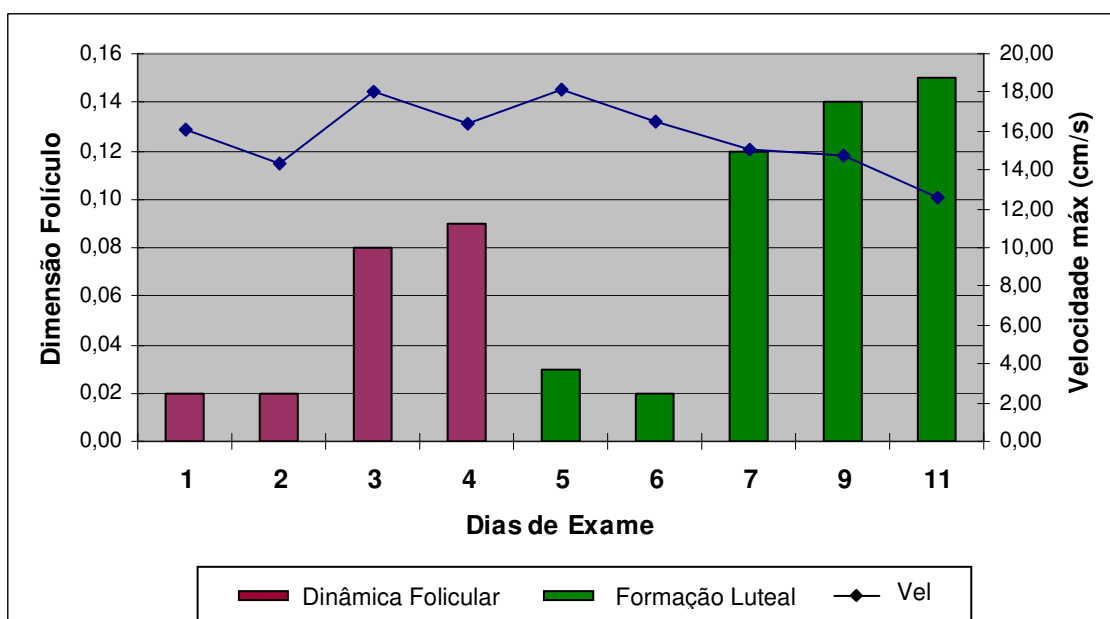


Figura 27: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e velocidade do ovário direito da fêmea nº 4. Botucatu, 2008.

Figura 24: Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do crescimento folicular e desenvolvimento luteal do animal n° 4. **A** – dia 1. **B** – dia 2. **C** – dia 3. **D** – dia 4. **E** – dia 5. **F** – dia 6. **G e H** – dia 9. **I e J** – dia 11. (* = Folículo principal)

Animal n° 5- SRD, adulta, 10Kg

Colapso folicular não foi visibilizado neste animal, porém, do segundo para o terceiro dia da avaliação no ovário esquerdo, a estrutura circunscrita anecóica de parede regular desapareceu, sendo substituída por uma estrutura hipoecogênica. Provável ovulação ocorreu no terceiro dia (Fig. 28). O IR variou de 0,46 a 0,64 do primeiro dia de avaliação até o 12° dia, apresentando uma queda no 4º dia, de 0,61 do 3º dia para 0,59 no quarto dia, a queda mais significativa ocorreu 24h depois da ovulação (Fig. 31). O IP variou de 0,65 a 1,12 do primeiro dia ao 12º, sendo que apresentou queda significativa no 3º e 5º dias, com IP de 0,58 no terceiro dia, e 0,89 no quinto (Fig. 32). A máxima velocidade do pico sistólico foi detectada no 4º dia de exame alcançando 33,45cm/s (Fig 33). Durante o período estudado ela variou de 13,44 a 33,45,cm/s (Quadro 7).

O ovário direito não foi considerado, pois não demonstrou crescimento folicular crescente ou estruturas com tamanho compatível com folículo ovariano. As estruturas inicialmente avaliadas não apresentaram crescimento significativo. Com o uso do Doppler e identificação do fluxo intra-ovariano, os resultados também se mostraram inconsistentes, ora apresentavam coloração, ora não. Desta maneira os resultados não constam neste trabalho. Outro fato observado no ovário direito foi a manutenção de suas dimensões durante todas as avaliações não demonstrando o crescimento do órgão.

Quadro 7: Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica, medida do diâmetro interno do maior folículo (mL), IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana do ovário esquerdo da cadela n° 5, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

Dias de avaliação US	P4 ng/mL	Célula superficial (%)	Mensuração do volume maior folículo (mL)	IR ovário E	IP Ovário E	Mensuração do eixo maior folículo (mm)	VPS (cm/s)
01	-	54	0,03	0,56	0,83	3,1	21,06
02	14,13	89	0,03	0,63	0,89	3,2	27,81
03	-	-	0,01	0,61	0,58	2,5	29,92
04	19,35	55	0,01	0,59	1,1	2,6	33,45
05	-	-	0,01	0,6	0,89	1,8	28,74
06	27,745	83	0,01	0,64	1,12	2,6	24,41
07	-	-	0,01	0,53	0,8	2	21,60
08	33,77	-	0,01	0,51	1,01	1,3	24,19
09	-	-	0,01	0,53	0,65	1,6	23,62
10	28,67	-	0,01	0,63	1,01	1,5	13,44
11	-	-	0,01	-	-	1,8	-
12	38,74	-	0,01	0,59	0,89	1,8	16,73
13	-	-	0,01	0,54	0,77	1,5	15,84

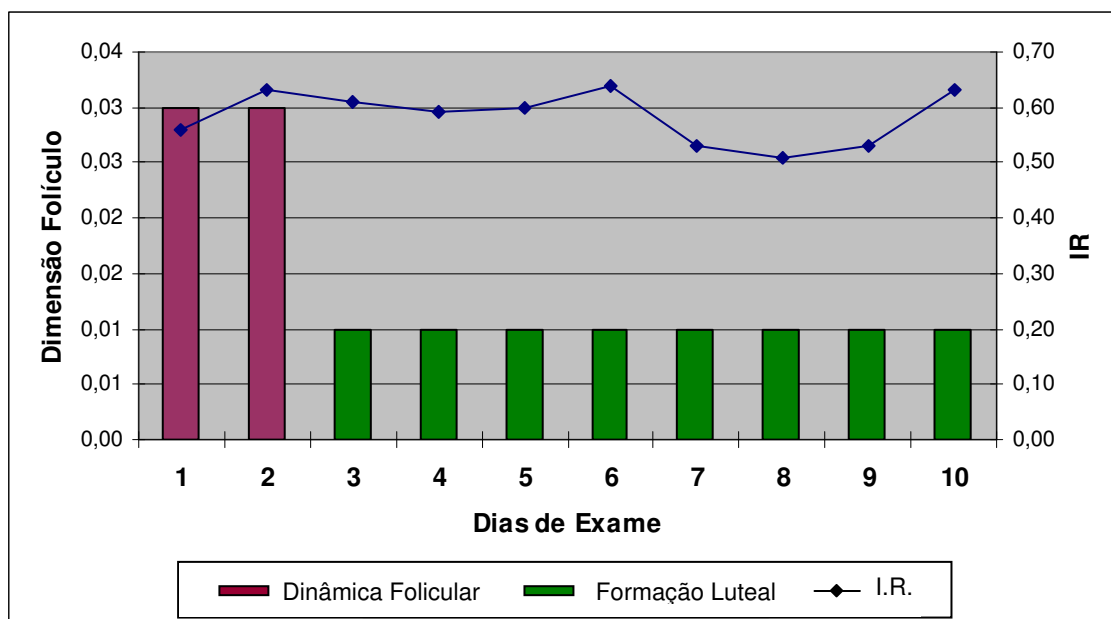


Figura 31: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de resistividade do ovário esquerdo da cadela n° 5. Botucatu, 2008.

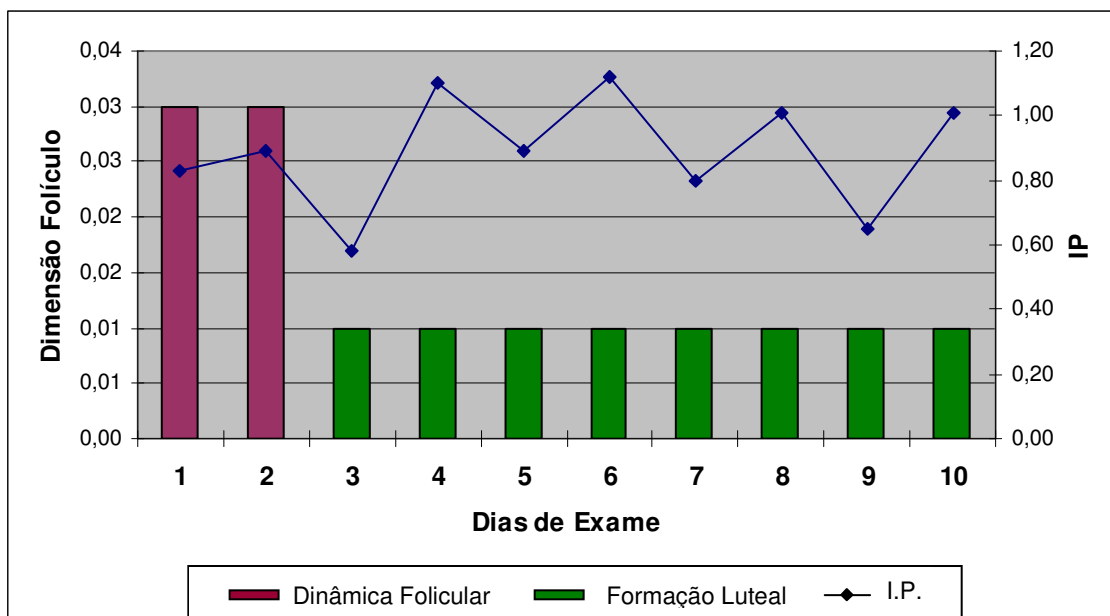


Figura 32: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e índice de pulsatilidade do ovário esquerdo da cadela n° 5. Botucatu, 2008.

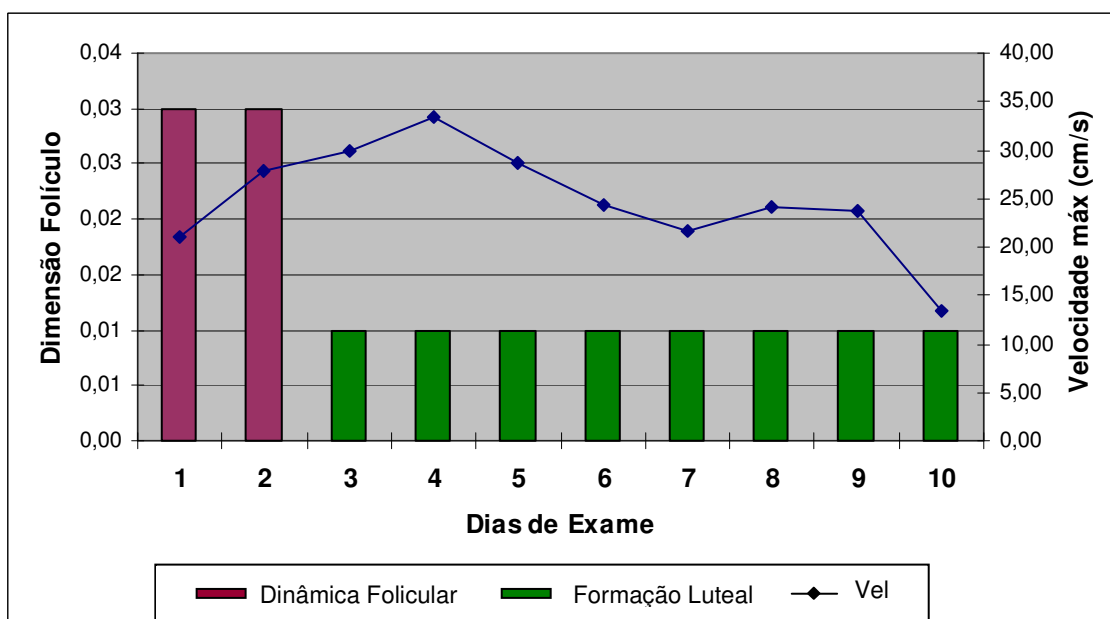


Gráfico 33: Relação entre as medidas de crescimento folicular, luteal e velocidade máxima do ovário esquerdo da cadela n° 5. Botucatu, 2008.

Figura 28: Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do crescimento folicular e desenvolvimento luteal do ovário esquerdo do animal n° 5. **A** – dia 1. **B** – dia 3. **C** – dia 4. **D** – dia 7. **E** – dia 8. **F** – dia 9.

⇒ medida externa → medida interna

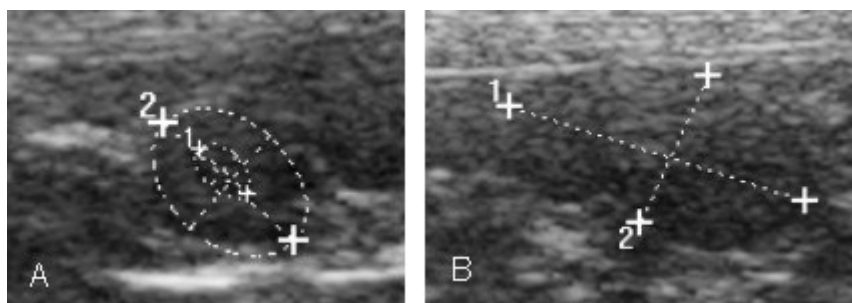


Figura 29: Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do desenvolvimento luteal do ovário esquerdo do animal n° 5. **A** – dia 11. **B** – dia 13.

Figura 30: Imagem ultra-sonográfica duplex Doppler caracterizando a

presença do fluxo sanguíneo em corpo lúteo de ovário, utilizando Doppler colorido, da cadela nº 5.

Figura 34 A, B, e C - imagem ultra-sonográfica do Doppler colorido do ovário da cadela nº 4, A) no dia da ovulação, B) dois dias depois da ovulação e C) quatro dias depois da ovulação.

As ovulações foram evidenciadas em seis (85,7%) dos sete folículos acompanhados nesse estudo, essas foram caracterizadas pela substituição da imagem circunscrita anecóica de parede regular por uma estrutura hipoecogênica de contornos irregulares ou diminuição das dimensões foliculares.

Durante toda a fase de proestro e estro foi possível detectar o Doppler espectral e colorido (Fig. 34).

A presença de corpos lúteos foi identificada em 100% das cadelas estudadas após a ovulação, caracterizada por uma imagem hipoecogênica com aumento do diâmetro externo da parede e diminuição do diâmetro interno.

A máxima velocidade do fluxo sanguíneo intra-ovariano no pico sistólico ocorreu 120 h em 16,67% antes da ovulação, 96h antes em 16,67%, 24h antes em 33,33%, no dia em 16,67% e 24h depois da ovulação em 16,66%.

As velocidades do pico sistólico nas cadelas desse experimento variaram de 10,45 a 33,50cm/s, e a média das VPS nesse período foi de 26,41cm/s.

Com relação às ovulações detectadas o IR apresentou uma redução no dia da ovulação em 33,33% dos ovários, 66,67% 24h depois da ovulação, e os valores nesse período variaram de 0,44 – 0,59.

Quanto à variação do IP dos ovários, observamos quedas oscilantes de 120h antes e até 24h depois da ovulação. Mas a queda mais freqüente do IP foi observada no dia da ovulação em 50% dos casos e 50% 24h depois da ovulação e o valor desse variou de 0,57-1,1.

6. DISCUSSÃO

O mercado Pet no Brasil cresce cerca de 20% ao ano e movimenta aproximadamente 40 bilhões/ano. O Brasil é o primeiro mercado da América Latina e o terceiro do mundo no segmento que envolve a criação e a indústria de animais de companhia. Para acompanhar esse crescimento, os profissionais ligados à área necessitam de informações atualizadas e abertura de novas especialidades para apoiar a reprodução e a criação de animais de companhia.

Dentro desse contexto e somado as particularidades da biologia reprodutiva dos cães e gatos, a ultra-sonografia surgiu como uma modalidade de diagnóstico por imagem, primeiro, na medicina humana e posteriormente na medicina veterinária sendo hoje uma prática imprescindível para o diagnóstico seguro e precoce de inúmeras doenças. Além disso, a ultra-sonografia tem um papel importante no diagnóstico precoce de gestação das diversas espécies domésticas facilitando o manejo reprodutivo.

A avaliação ultra-sonográfica da dinâmica do crescimento folicular nos bovinos e eqüinos é uma prática que possibilitou um avanço considerável na utilização das técnicas de reprodução artificial. Do mesmo modo, em se tratando da espécie canina, ainda existem muitas dificuldades no estudo da dinâmica do crescimento folicular e detecção do processo da ovulação, o que impossibilita o uso de muitas técnicas de produção de embriões in vitro. Uma etapa fundamental para o controle do ciclo reprodutivo das cadelas é o acompanhamento ultra-sonográfico do crescimento folicular e formação luteal, por isso o objetivo principal deste trabalho foi acompanhar o processo de crescimento folicular, ovulação e formação luteal por meio de exames ultra-sonográficos em modo B. Também foi objeto de estudo o uso da Dopplerfluxometria para a determinação dos índices de resistividade e pulsatilidade da artéria intra – ovariana na fase folicular e início do diestro do ciclo estral de cadelas.

Uma das maiores dificuldades encontradas no exame ultra-sonográfico dos ovários na espécie canina é seu pequeno tamanho, sua ecogenicidade semelhante aos tecidos adjacentes e a bursa ovariana (ENGLAND et al., 2003); além disso, a presença ou ausência de estruturas no estroma ovariano altera a visibilização desse

órgão no exame ultra-sonográfico (JARRETA, 2004). Apesar de todas essas dificuldades a presença de gases e fezes nas alças intestinais causa artefatos de imagem, tornando esse exame mais trabalhoso. Nesse aspecto torna-se necessário o preparo prévio do animal com jejum alimentar de 12h e administração de substâncias antifiséticas.

Neste trabalho as fêmeas foram alojadas no canil da pós-graduação e no momento do exame eram transferidas para o setor de diagnóstico por imagem, esse exame sempre ocorria antes da primeira alimentação do dia; nesse trajeto as cadelas normalmente defecavam o que facilitava a visibilização dos ovários. Se no início do exame os ovários não eram visibilizados completamente pela presença de artefatos de imagem, o animal era retirado da mesa e estimulado a se movimentar para eliminação das fezes e dos gases.

Um aspecto importante para a realização do exame ultra-sonográfico é a tricotomia, que deve ser realizada sempre a partir do 10º espaço intercostal até a região do pubis e lateralmente até a região dos músculos sublombares. Essa tricotomia associada ao uso do gel facilita a visibilização dos ovários pois aumenta a aderência da probe com a pele, melhorando a manuseio e a movimentação do transdutor.

No exame ultra-sonográfico, a posição do animal durante a avaliação deve ser considerada. Neste trabalho os animais eram inicialmente examinados em decúbito lateral esquerdo e direito, em decúbito dorsal e em alguns casos em estação. Uma das situações observadas foi a inquietação de algumas fêmeas durante o exame, devido ao tempo normalmente longo, utilizado para visibilizar os ovários, direito e esquerdo, mensurações e avaliações das suas estruturas. Para contornar essa situação os animais eram afagados e juntamente com a penumbra e o silêncio do ambiente geralmente se tranquilizavam, dormiam e desta forma o exame podia prosseguir sem problemas.

Todos os cinco animais avaliados no presente estudo eram de porte pequeno, com peso variando de 4 a 10 Kg. Isto nos permitiu trabalhar com um transdutor de 10MHz que proporcionou uma melhor definição dos contornos, das estruturas intra-ovarianas e principalmente da artéria intra-ovariana.

Durante a fase de anestro do ciclo estral os ovários são difíceis de serem identificados ou visibilizados pois não possuem nenhuma estrutura anecogênica ou hipocogênica que facilite sua detecção. (FONTBONE & MALANDAIN, 2006). Portanto, na fase de proestro, os ovários são identificados com maior facilidade e geralmente numa posição caudo-ventral em relação aos rins. No trabalho em questão, os ovários foram visibilizados caudal aos rins, dorso-caudal e às vezes em localização mais superficial no abdômen.

No início do proestro os ovários são visibilizados com mais facilidade pois já possuem vários folículos em crescimento (ENGLAND et al., 2003; JARRETA, 2004), da mesma forma, o Color Doppler na artéria intra - ovariana começa a ser visibilizado mais facilmente possibilitando a avaliação quantitativa do vaso.

Uma das maiores dificuldades encontradas no monitoramento dos folículos durante a fase de proestro é o tamanho pequeno das estruturas foliculares e a identificação segura dos vários folículos em crescimento, por isso, o acompanhamento diário ou no mínimo a cada 48 horas é de suma importância (FONTBONE & MALANDAIN, 2006). Para contornar esse problema utilizou-se um esquema (Fig. 2) no qual era desenhado o posicionamento das estruturas com a finalidade de facilitar a identificação da mesma imagem no dia seguinte. Ainda com relação à dificuldade na identificação e mensuração de todos os folículos em crescimento, optou-se pela avaliação e mensuração do folículo maior que denominamos de principal. Desta forma tentou-se estabelecer uma metodologia de avaliação e medição dos folículos e dos corpos lúteos.

A taxa de ovulação nas cadelas é dependente do porte e da raça dos animais, variando de 0 a 5 nas cadelas de pequeno porte, 3 a 10 nas cadelas de médio porte e de 5 a 18 nas cadelas de raças grandes ou gigantes (CONCANNON et al., 1989; ENGLAND & CONCANNON, 2002; LUVONI et al., 2006; CONCANNON & VERSTEGEM, 2005; FONTBONE & MALANDAIN, 2006) portanto, o número de folículos em crescimento é elevado e difícil de serem identificados individualmente. Outro fato importante a ser considerado é que o processo de ovulação nas cadelas não é simultâneo, ou seja, da primeira até a última ovulação decorre um tempo de aproximadamente 24 horas, portanto, os folículos se desenvolvem de forma assincrônica o que dificulta ainda mais a medição de todos os folículos. Por isso o

acompanhamento folicular neste trabalho mediu apenas as estruturas maiores, as quais foram avaliadas até a formação luteal.

De acordo com os trabalhos de ENGLAND & ALLEN, 1989 a e HAYER et al.,(1993) os primeiros folículos ovarianos foram detectados quatro dias após o início do proestro e mediam 4mm de diâmetro. A primeira identificação dos folículos ovarianos, neste trabalho, foi realizada no segundo e terceiro dia do início do proestro e mediam entre 2,5 a 4,5mm.

Após o início do crescimento folicular, foi observado um aumento crescente dos folículos e os folículos pré-ovulatórios atingiram cerca de 3,2 a 6,7mm, não considerando as cadelas individualmente. Esses valores foram semelhantes aos valores de England e Allen, (1989b) no momento da onda de LH, entretanto, foram inferiores aos resultados de Yeager e Concannon, (1989) cujos valores foram de 8 a 9 mm, de England e Allen, (1989^a) e Hayer, (1993) com valores de 6 a 9 mm, e England e Allen, (1989b) com valores de 7 a 11mm, próximo as ovulações.

Nossas avaliações mínimas e máximas foram menores do que a descrita pela maioria dos autores, entretanto, temos que considerar as diferenças raciais, incluindo o tamanho e peso dos animais avaliados (Fontbonne e Malandain, 2006), além do que, a maioria dos estudos foi realizada no hemisfério norte, e os nossos, no hemisfério sul. Outra diferença vista foram os aparelhos de ultra-sonografia utilizados nos exames. A avaliação de estruturas ovarianas tais como o desenvolvimento folicular, a ovulação e a presença de corpo lúteo, requerem um transdutor de alta resolução e exames diários ao longo do ciclo para a observação de alterações das imagens observadas (BOYD et al., 1993; NYLAND et al.,2002; JARRETA, 2004). Segundo Fontbone & Malandaim, (2006) independente da raça, as dimensões dos folículos pré-ovulatórios variam entre 6 a 9 mm e normalmente, a ultra-sonografia subestima o número de folículos.

Durante nosso acompanhamento ultra-sonográfico diário observamos um crescimento assincrônico dos folículos, o que nos levou a identificar e mensurar apenas os folículos maiores ou principais, desprezando os folículos menores e mais difíceis de serem visibilizados e acompanhados. Este fato norteou nossa decisão de não descrever os resultados referentes aos ovários direito da cadela nº 1 e esquerdo

das cadelas nº 3 e 4 onde as medidas foram extremamente variadas, não correspondendo a avaliações crescentes conforme o esperado. Uma outra possível explicação para essa dificuldade encontrada na mensuração de folículos pequenos foi o porte dos animais avaliados; todas as fêmeas eram de tamanho pequeno, o que de um lado foi benéfico, mas em contrapartida as estruturas analisadas eram múltiplas e extremamente pequenas.

Uma das maiores dificuldades na identificação do momento ideal da inseminação artificial (I.A.) em cães, é a detecção das ovulações; até a última década, as únicas possibilidades de identificar indiretamente o momento de aparecimento da onda pré-ovulatória de LH era por meio da realização da citologia vaginal e de dosagens séricas de progesterona. Uma concentração plasmática de progesterona de 2 ng/ml (16 nmol/ L) correspondente ao dia 0 da onda pré-ovulatória de LH (KUSTRITZ, 2001; LOFSTEDT, 2004; REYNAUD et al., 2005; GIER, 2006).

O exame citológico é de fácil realização, porém, não determina com acurácia o dia da ovulação. A combinação das concentrações de progesterona, do LH, análise das células do epitélio vaginal e endoscopia vaginal são essenciais para facilitar a determinação da ovulação de uma forma mais confiável (ENGLAND & CONCANNON, 2002), mas independente da combinação desses diversos critérios, os resultados de I. A. com sêmen resfriado ou congelado são muito baixos, aquém, dos resultados obtidos em outras espécies e isso se deve basicamente a dificuldade de depositar o sêmen no momento mais adequado do ciclo estral nas cadelas.

De acordo com o trabalho de Fontbonne e Malandain, (2006) as dosagens de progesterona no momento das ovulações revelaram-se constante, com valores de $6,25 \pm 1,55$ ng/mL. Nesse estudo a detecção da ovulação através da ultra-sonografia mostrou ser o método clínico mais rigoroso e a realização de dois exames diários não demonstrou qualquer contribuição adicional e portanto, foi recomendado um exame ultra-sonográfico diário dos ovários. Nossos resultados de progesterona e citologia vaginal foram inconsistentes, não sendo possível estabelecer uma correlação com os achados ultra-sonográficos.

Na cadela nº 1, ovário esquerdo, o segundo folículo considerado, apresentou uma imagem ultra-sonográfica compatível com ovulação no momento onde a concentração de progesterona estava ao redor de 4,35 ng/mL, com 88% de células superficiais na avaliação citológica. No animal nº 2, a progesterona apresentou resultados próximos de 7,6 ng/mL, com citologia de 92% de células superficiais e com imagem ultra-sonográfica característica de ovulação. Já a cadela nº 4, apresentou concentração sérica de progesterona de 1,09ng/mL, citologia de 60% de células superficiais, no dia em que a imagem circunscrita anecóica foi substituída por uma imagem hipoecogênica de contornos irregulares. Na fêmea nº 5 apenas a citologia vaginal foi compatível com a imagem ultra-sonográfica de ovulação, 89% de células superficiais, embora essa avaliação isoladamente não identifique com segurança a onda pré-ovulatória de LH e nem as ovulações (ENGLAND & CONCANNON, 2002).

Em algumas cadelas foi possível avaliar a visibilização luteal pela mensuração externa acompanhando o corpo lúteo pelo seu contorno externo. Já em outras cadelas não foi possível a definição da parede externa e o provável corpo lúteo foi acompanhado pela mensuração do diâmetro interno da estrutura principal.

Desde o primeiro dia de exame ultra-sonográfico, ou seja, na fase de proestro foi possível detectar a vascularização intra-ovariana pelo Doppler colorido bem como a sua onda espectral.

Com relação à velocidade do pico sistólico observamos que os valores máximos de VPS foram encontrados de 120h antes até 24h depois da ovulação, sendo que a maioria desses resultados é discordante de Koster et al. (2001) que relataram que os valores da velocidade do pico sistólico foram significativamente maiores dois dias depois da ovulação, assim como descrito por Tan et al., (1996).

Com relação à máxima VPS encontrada próxima ao período de ovulação, notamos que uma vez que essa atingiu as altas velocidades, durante o período de proestro e estro, a velocidade só tende a diminuir e não atinge valores altos novamente. Esses dados são parcialmente semelhantes aos obtidos em mulheres, pois a máxima velocidade do fluxo sanguíneo intra-ovariano nas mulheres ocorre no dia da ovulação (BOURNE et al., 1991).

Em nosso estudo as velocidades do pico sistólico das cadelas variaram de 10,45 a 33,5cm/s durante o período de proestro e estro, embora a média da máxima VPS nesse período seja 26,41cm/s. Considerando o mesmo período do ciclo estral os valores encontrados por Koster et al. (2001) foram menores, atingindo no máximo 23,89cm/s, assim como os dados descritos por Tan et al. (1996).

Essa velocidade de fluxo sanguíneo máxima, VPS, foi encontrada 120 horas antes da ovulação em 16,67%; 96 horas antes em 16,67%; 24 horas antes em 33,33%; no dia em 16,67% e 24 horas depois da ovulação em 16,66%. Esses dados são parcialmente semelhantes aos encontrados por Tan et al. (1996), que detectaram essa mudança de velocidade do fluxo sanguíneo intra-ovariano de mulheres de 24h antes às 36hs depois do surgimento de LH, podendo chegar a 23,5cm/s.

Segundo Brännström et al., (1998) o maior aumento da velocidade do pico sistólico ocorreu no início da fase ovulatória, dados semelhantes aos encontrados nesse estudo, pois a velocidade mostrou picos maiores em 33.33% dos ovários, 24h antes da ovulação.

Com relação às seis ovulações detectadas nos ovários estudados observamos que o IR apresentou uma redução no dia da ovulação em 33,33% dos ovários; 66,67%, 24h depois da ovulação e os valores próximos à ovulação variaram de 0,44 – 0,59 apresentando uma média de 0,53, valores esses bem superiores quando comparamos com os dados do ciclo estral das mulheres descritos por BOURNE et al (1991), aonde o IR é de 0,44 +/- 0,04 na ovulação e 0,43 +/- 0,04 logo após a ovulação.

No trabalho demonstrado, o IR começa a diminuir de forma mais intensa no dia ou 24h depois da ovulação, nesse período os valores foram de 0,44 a 0,59, valores semelhantes aos descritos por Koster et al. (2001) onde o IR foi de 0,60 a 0,57.

Os dados obtidos do IP foram próximos aos de Koster et al. (2001) que descrevem que o IP foi significativamente menor dois dias depois da ovulação; em nosso estudo, foi predominantemente 24h após a ovulação.

Concordantes também os resultados desta pesquisa quando confrontamos com dados de Sladkevicius et al., (1993) que verificaram no ciclo normal de mulheres que o IP diminui após a rotura folicular, sendo significativamente mais baixo na fase lútea do que na fase folicular.

Por outro lado, quando analisamos a variação do IP dos ovários estudados, observamos quedas oscilantes de 120h antes, até 24h depois, da ovulação. De uma maneira geral observamos uma queda dos valores do IP considerável no dia da ovulação em 50% dos casos e 50% 24h depois da ovulação e o valor do IP variou nesses dias de 0,57-1,1. Portanto os valores do IP nos dias observados pré e pós-ovulação foram oscilantes na maioria das cadelas, mas semelhantes aos descritos por TAN et al., (1996) e Koster et al. (2001) que descreveram uma queda significativa de IP após a ovulação.

7. CONCLUSÃO

1) Com o ultra-som convencional e transdutor linear de 10Mhz foi possível detectar 100% dos ovários de cadelas em torno de 10kgs de peso durante todo o período de proestro e estro

2) A imagem Ultra-sonográfica convencional com transdutores de alta resolução possibilitou acompanhar a desenvolvimento folicular, colapso e formação de corpo lúteo em 85,7% dos folículos observados.

3) É possível detectar a imagem do Doppler colorido tanto como a onda espectral das artérias intra-ovarianas durante todo o período de proestro e estro em cadelas SRD de 10kgs.

4) As velocidades do pico sistólico, durante a fase analisada de proestro e estro, nas cadelas variaram de 10,45 a 33,05cm/s e a média da máxima VPS nesse período foi de 26,41cm/s.

5) O IR tende a apresentar declínio no dia da ovulação ou 24h após, e seu valor pode variar de 0,44 – 0,59. O IP apresentou muitas oscilações no proestro e estro estudado apresentando declínio desde 120h antes até 24h depois da ovulação e seu valor nesse período foi de 0,57-1,1.

6) Novas pesquisas com uma amostra maior de cadelas de diferentes pesos devam ser realizadas no sentido de padronizar os valores dopplerfluxométricos da artéria intra-ovariana em cadelas em condições nacionais durante o ciclo reprodutivo normal.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, T. J.; HAYASHI, K. G., OHTANI, M.; Local changes in blood within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. **Reproduction**, v.125, n.5, p. 759-767, 2003.

ALLEN, W. E.; DAVIES, J. V. Use of ecography in bitches. **Vet. Rec.** v.115,p. 447,1984.

BADINAND, F.; FONTOBONE, A. Repeatability of events during successive oestrous periods within bitches: comparison between breeding results and clinical and hormonal data. **Journal Reprod. Fertil. Suppl**; v. 47), p -547-548, 1993.

BODY, J. S.; RENTON, J. P.; HARVEY, M. J.; NICKSON, D. A.; ECKERSALL, P. D.; FERGUSON, J. M. Problems associated with ultrasonography of the canine ovary around the time of ovulation. **J. Reprod.Fertil.Suppl.**; v. 47; p.101-105, 1993.

BOLLWEIN, H., MEYER, H. H. D.; MAIERL, J., WEBER, F.; BAUMGARTNER, U.; STOLLA, R. **Theriogenology**, v.53. p.1541-1552, 2000.

BOOTE, E.F. AAPM/ RSNA physics tutorial for residents: topics in ultrasound: Doppler ultrasound techniques concepts of blood flow detection and flow dynamics.; **Radiographics**,v.23, p.1315-1327, 2003.

BOURNE, T.H., JURKOVIC, D., WATERSTONE, J., CAMPBELL, S., COLLINS, W.P. Intrafollicular blood flow during human ovulation. **Ultrasound obstet. Gyneco.** V. 1, p.53-59, 1991.

BRANNSTROM, M., ZACKRISSON, U. Preovulatory changes of blood flow in different regions of the human follicle. **Fertil. and Steril.**, v.9, p.435–442, 1998.

CERRI, G. G.; MÓLNAR, L. J.; VEZOZZO, D.C.P. **Doppler**. São Paulo: Sarvier, 1998.

CHRISTENSEN, G. C. The urogenital apparatus. In: EVANS, H. E., CHRISTENSEN, G. F. **Miller's Anatomy of the dog**, 2.ed. Philadelphia: WB Saunders, 1979. p. 544-601.

CONCANNON, P. W.; HANSEL, W.; VISEK, W.J. The ovarian cycle of the bitch.: plasma estrogen, LH and progesterone. **Biol. Reprod.**, v.13, p-112–121. 1975.

CONCANNON, P. W. canine pregnant and parturition. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.16, p-453-472, 1986.

CONCANNON, P. W.; McCANN, J. P.; TEMPLE, M. Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. **J. Reprod. Fertil. Suppl.**, V.39, p. 3-25, 1989.

CONCANNON, P.W.; VERSTEGEN, J. Some unique aspects of canine and feline female reproduction important in veterinary practice. In: WSAVA, 30. México, 2005, **Proceedings**, Mexico City, 2005. p1-8.

ENGLAND, C.; ALLEN, W. E. Real time ultrasonic imaging of the ovary and uterus of the Dog. **J. Reprod. Fert. Suppl.**, v.39, p.191-100, 1989.

ENGLAND, G. E.W.; ALLEN, W. E. Ultrasonographic and histological appearance of the canine ovary. **Vet. Rec.**, v.125, p.555-556, 1989.

ENGLAND, G. C.; YEAGER, A. E. Ultrasonographic appearance of the ovary and uterus of the bitch during oestrus, ovulation and early pregnancy. **J. Reprod. Suppl.**, v.47, p.107-117, 1993.

ENGLAND, G.; YEAGER, A.; CONCANNON, P.W. **Ultrasound imaging of the reproductive tract of the bitch**. Ithaca. International Veterinary Information Service, 2003. Disponível em: www.ivis.org. Acessado em: 21 jul. 2003.

ENGLAND, G.C.W.; CONCANNON, P.W. Determination of the optimal breeding time in the bitch: basic considerations. In: CONCANNON, P.W.;

ENGLAND, G.; VERSTEGEN, J.; LINDE-FORSBERG, C. (Eds.) **Recent advances in small animal reproduction**. Ithaca: International Veterinary Information Service. <<http://www.ivis.org/>>. Acessado em 20 set. 2005.

ENGLAND, G & CONCANNON, P.W. Determination of the optimal breeding time in the bitch; Basic consideration. In: Concannon, P. W et al. **Recent Advances in Small Animal Reproduction**. Ithaca: International Veterinary Information Service, 2002. Disponível em: <<http://www.ivis.org/>>. acesso em 13 dez. 2006.

EVANS H.M.; COLE, H.H. An introduction to the study of the oestrous cycle of the dog. In: Editora: 1931. Cap. 5, p-65 – 103.

FELDMAN, E.C., NELSON, R.W. **Canine and feline endocrinology and reproduction**. 3. ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 2004. p. 852 – 858.

GIER, J. Differential regulation of the secretion of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone around the time of ovulation in the bitch. **Theriogenology**, v. 66, p.141-142, 2006.

GUNZEL-APEL, A.R.; KAWAUCHI, R.; NAUTRUP, C.P.; HEDRICH, H.J. Sonographic presentation of the physiologic ovarian function in the anovulatory and pseudopregnant cycle of the cat. **Tierarztl. Prax. Ausg. K. Klientiere. Heimtiere.**, v.26, p.275-283,1998.

FELICIANO, M. A. R.; VICENTE, W.R.R.; LEITE, C.A.L.; MUZZI, L. A. L. Novas perspectivas no diagnóstico ultra-sonográfico gestacional em cadelas – Revisão de Literatura. **Clinica Veterinária**, v.73, p. 56-60, 2008.

FONTBONNE, A.; REYNAUD, K.;MARCELOO, N. In vivo meiotic resumption, fertilization and early embryonic development in the bitch. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CANINE AND FELINE REPRODUCTION, 2004. v.1, p. 144.

FONTBONNE, A., MALANDAIN, E. Ovarian ultrasonography and follow-up of estrus in the bitch and queen. **Waltham Focus**, International Veterinary Information

Service, v. 16, n. 2, 2006. Disponível em: /http://www.ivis.org/>. Acesso em: 2 nov 2007.

GODMAN, M. Canine reproduction Timing. **Canine Reprod. Symp.**, p.1-5, 1998.

HAYER, P.; GUNZEL-APEL, A.R.; LUERSSEN, D.; HOPPEN, H.O. Ultrasonographic monitoring of follicular development, ovulation and early luteal phase in the bitch. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** v 47, p. 93-100, 1993.

HOFFMAN, B.; RIESENBECK, A.; KLEIN, R. Reproductive endocrinology of bitches. **Anim. Reprod. Sci.**, v.42, p.275-288, 1996.

HOLST, P. A. & PHEMISTER, R. D. Onset of dioestrus in the beagle bitch: definition and significance. **American Journal of Veterinary Research.** v.35, p.401-406, 1971.

INABA, T.; MATSUI, N.; SHIMIZU, R.; IMORI, T. Use of echography in bitches for detection of ovulation and pregnancy. **Vet. Rec.** v.115, p. 276-277, 1994.

JARRETA, G. B. Ultra-sonografia do aparelho reprodutor feminino. In: CARVALHO, F.C. **Ultra-sonografia em pequenos animais**. São Paulo: Rocca, 2004, p.181-188.

JEFFCOATE, I. A.; LINDSAY F. E. F. Ovulation detection and timing of insemination based on hormone concentrations, vaginal cytology and the endoscopy appearance of the vagina in domestic bitches. **J. Reprod. Fertil. Suppl.**, Oxford, v.39, p.277-287, 1989.

JOHNSTON, S.D.; KUSTRITZ, M.V.; OLSON, P.N. Disorders of Canine Ovary. In: **Canine and Feline Theriogenology**. Philadelphia: W. B. Saunders, 2001. p.193-205.

JOCHLE, W.; TOMLINSON, R.V.; ANDERSEN, A. C. Prostaglandin effects on plasma progesterone levels in the pregnant and cycling dog (Beagle). **Prostaglandins.** v.3, p.209-217, 1973.

KOSTER, K.; NAUTRUP, C.P.; GUNZEL-APEL, A.R. A Doppler ultrasonographic of cyclic changes of ovarian perfusion in the beagle bitch. **Reproduction**, v.122, p. 453-461, 2001.

KRAWIEC, D.R.; HEFLIN, D. Study of prostatic in dogs. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.200, p.1119-22, 1992.

KUSTRITZ, M.V. Use of commercial luteining hormone and progesterone assay. Kits in canine breeding management. In; CONCANNON, P.W.; ENGLAND, G.; VERSTEGEN, I. **Recent Advances in Small Animal Reproduction**, Ithaca: International Veterinary Information Service, 2001. Disponível em: <<http://www.ivis.org>>. acesso em 15 mai 2006.

LUZ, M.R.; CESARIO, M.D.; BINELLI, M. LOPES, M.D. Canine Corpus Luteum Regresion: Apoptosis and Caspases Activity. **Abstract book 5 th International Symposium on Canine and Feline Reproduction**. v. 1, p.36-38, 2004.

MARCELOO, N.; FONTBONNE, A., BASSU, G.; Comparison of Ovarian Ultrasonography with Hormonal Parameters for The Determination of the Time of Ovulation in Bithes. **Abstract book 5 th International Symposium on Canine and Feline Reproduction**. v.1, p.75-76, 2004.

MATTON, J.S.; NYLAND, T.G.. Ovaries and uterus. In: NYLAND, T.G., MATTON, J.S. **Small animal diagnostic ultrasound**. 2^{ed}. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2002. chap. 12, p.231-249.

NYLAND, T.G.; MATTON, J.S. **small animal diagnostic ultrasound**. Philadelphia: W.B.Sauders, 2002. p 461.

RENTON, J.P.; BOYD, J.S.; HARVEY, M.J.; FERGUSON, J.M.; NICKISO, D.A.; ECKERSALL, P.D. Comparioson of endocrine changes and ultrasound as means of identifying ovulation in the bith. **Research Veterinary Sciencie**, v.53, p.74-79, 1992.

REYNAUD, K. In vivo meiotic resumption, fertilization and early embryonic development in the bitch. **Reproduction**, v.130, p.193-201, 2005.

SLADKEVICIUS, V.L, MARSAL, K. Blood flow velocity in the uterine and ovarian during the normal menstrual cycle. **Ultrasound Obstet. Gynecol.**, v.3, p.199-208, 1993.

SMITH, M.S.; MC DONALD, L.E. Serum levels of luteinizing hormone and progesterone during the estrous cycle, pseudopregnancy and pregnancy in the dog. *Endocrinology*, p-404 – 412, 1974

WALLACE, S.S.; MAHAFFEY, D.M.; THOMPSONS, F. N. Ultrasonography of the dog ovary during follicular and early luteal phases. **J. Reprod. Fertil. Suppl.**, v.39, p: 331, 1989.