

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 30/07/2023.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA E
REPRODUÇÃO ANIMAL**

**MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS EM CÃES BRAQUICEFÁLICOS:
UM ESTUDO RETROSPECTIVO**

MARINA VILELA ESTEVAM
Médica Veterinária

2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA E
REPRODUÇÃO ANIMAL**

**MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS EM CÃES BRAQUICEFÁLICOS:
ESTUDO RETROSPECTIVO**

Discente: Marina Vilela Estevam

Orientadora: Dra. Maricy Apparício Ferreira

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

2022

E79m Estevam, Marina Vilela
Malformações congênitas em cães braquicefálicos: um estudo retrospectivo / Marina Vilela Estevam. -- Jaboticabal, 2022
67 f. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Maricy Apparício Ferreira

1. Teratogenia. 2. Animais domésticos filhotes. 3. Recém-nascido. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

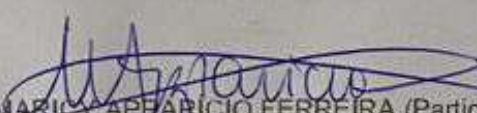
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

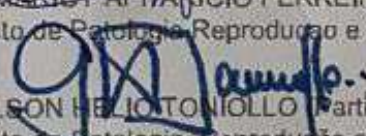
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS EM CÃES BRAQUICEFÁLICOS. UM ESTUDO RETROSPECTIVO

AUTORA: MARINA VILELA ESTEVAM

ORIENTADORA: MARICY APPARÍCIO FERREIRA

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


Profa. Dra. MARICY APPARÍCIO FERREIRA (Participação Virtual)
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. GILSON HELIO TONIOLLO (Participação Virtual)
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. CRISTINA DE FÁTIMA LUCIO (Participação Virtual)
REPRODUÇÃO ANIMAL / Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Guarulhos

Jaboticabal, 30 de julho de 2022

DADOS CURRICULARES

Marina Vilela Estevam, nascida no dia 25 de setembro de 1991, natural de Santos - SP, cursou Medicina Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Unesp - Campus de Jaboticabal, tendo ingressado em 2011 e concluído o curso em 2016. Realizou treinamento no setor de Obstetrícia iniciando no ano de ingresso (2011) e seguindo no setor até o final de sua graduação, tendo realizado treinamento também no setor de grandes animais. Fez Residência no Setor de Obstetrícia na mesma instituição nos anos de 2018-2019 pelo programa PAP (Programa de Aprimoramento Profissional). Realizou diversos cursos extracurriculares desde a graduação na área de reprodução e Neonatologia, que despertaram o interesse por essa área de pesquisa. Ingressou no mestrado em 2020 pelo programa de Medicina Veterinária com ênfase em reprodução animal para trabalhar com malformações congênitas.

“Ela tem força, ela tem sensibilidade. Ela é guerreira,
Ela é uma Deusa, ela é mulher de verdade (...)
Ela é discreta e cultua bons livros e ama os animais”

Ela Vai Voltar - Charlie Brown Jr.

Dedico este trabalho a todas as mães acadêmicas.
Alunas, Pós-graduandas e Professoras.
Vamos ocupar os espaços que a sociedade insiste em nos negar.

AGRADECIMENTOS

O primeiro agradecimento é sempre aos meus pais, que seguraram a onda financeira e emocional para que eu pudesse aliar a maternidade à minha profissão. Obrigada!

Às minhas avós que sempre me receberam com uma caneca de café com leite e pão quentinho quando eu estava prestes a colapsar. Colo de vó é tudo que uma mãe solo pós-graduanda precisa. Obrigada.

Dois dos cinco anos descritos neste estudo foram os meus pacientes da residência, outros dois anos foram nossos pacientes nos experimentos do SORA. A cada um desses filhotes e suas mães, meu muito obrigada e sinto muito por cada vida que não salvamos. Cada vida importa. Cada ser é único. Cada um de vocês foi um tijolo importante na ponte de conhecimento que estamos construindo.

Às minhas mães, irmãs e filhas acadêmicas. “Me espelho em vocês, corro junto com vocês, vivo junto com vocês, faço tudo por vocês”. Beatrice, Raquel, Ana e Marina, Pri e Elaine, Migs, Pri, Pin e Lê, (Marjurete maravilhosa), Cica, Siri, Fura, Ca, Paulinha e Amandinha, as últimas crias da Linhagem Obs do amor. Vocês são minha família. Minha árvore genealógica. Minha raiz e minha base. Meu orgulho e meu espelho. Obrigada!

Siribinha e Fura, vocês foram as maiores parceiras que eu já tive. Sou parte de vocês e vocês de mim. O megazord. Muito obrigada.

Lau e Pam, as melhores anestesistas que o mundo já viu. Minha matilha de cães de briga. Minha maior saudade de todos os dias. É muito bom ter alguém pra ligar chorando e arrancar os cabelos, antes de arregaçar as mangas e tomar uma atitude! Obrigada!

Team Nutri-Obs Leti, Dudinha, Isa, Mo e Ste. Obrigada por terem nutrido e amado cada um dos pacientes que dividimos. Todos esses filhotes malformados que salvamos, vocês foram essenciais. Nutriram o corpo deles e o meu espírito. Obrigada.

Renatha, Fred e Ane, os presentes que eu ganhei no processo residência-pós. Uma mãe não faz nada sem rede de apoio. Uma mãe solo menos ainda. Vocês também são nossa família.

Aos nossos funcionários, Seu Edson que faz o melhor café daquele Hospital e com quem eu tenho o prazer de ter longos e divertidos papos. Josi e Arnildo, nossos enfermeiros que mantinham tudo sempre na mais perfeita ordem pra que o nosso trabalho andasse com a qualidade que sempre andou. Muito obrigada!

Professor Gilson, meu orientador desde que a Nescuique *bixete* pisou na Obs pela primeira vez em 2011 sem nenhum conhecimento mas muita vontade de aprender, membro oficial de todas as minhas bancas. O professor mais gentil daquele Hospital. Conhecimento, didática e empatia. Obrigada.

Meu anjo da guarda, minha salvadora, minha inspiração, minha Mãericy. Não tenho agradecimentos o suficiente. Só lágrimas, lágrimas, lágrimas. Quanto conhecimento cabe dentro de um único cérebro? Quanto carinho e paciência cabem dentro de um coração? Eu não teria encarado a pós com outra orientadora. O doutorado só vem porque eu tenho a melhor orientadora do mundo. Obrigada.

Obrigada Tina e Pi por manterem minha filha ocupada e cansada pra que eu pudesse trabalhar.

À República Àlcool-Íris, que me acolheu como residente full pistola e depois me acolheram como mãe solo. Com cachorro e nenê debaixo do braço. Morar em república com um bebê recém-nascido foi uma das experiências mais incríveis da minha vida. E foi tudo graças a vocês. Mandy, Guaxi e Carolzinha. Vocês são meu orgulhinho. Obrigada.

Meu bondinho são carlense Na, Jé, Raíssa e Pedroca, Chaveco, Nat e Dianinha. Vocês se desdobraram mil vezes pra fazer parte das nossas vidas. Pra que eu pudesse ter o mínimo de vida social no meio desse caos chamado MATERNIDADE SOLO NA PÓS-GRADUAÇÃO. Eu também não teria conseguido sem o apoio de vocês. Obrigada.

À minha borboletinha azul, minha companheirinha, meu muito obrigada e também minhas mil desculpas. Quantas vezes eu não pude estar com você pra poder trabalhar. Espero que você cresça, valorize os estudos, valorize o trabalho e entenda que tudo isso foi pra um bem maior. O seu, o meu, dos meus pacientes e da ciência.

Por fim e não menos importante, Obrigada Fê por ter ficado dias acordado me fazendo companhia enquanto eu escrevia. Pega café, pega água, traz chocolate,

brinca com a criança, toca violão... Você tornou essa reta final muito mais leve. Obrigada por ter sido meu melhor amigo nos últimos 16 anos. Ao infinito e além.

Amo cada um de vocês. Obrigada e me desculpem pelas ausências e pelo mau humor.

Agradeço também ao CNPq pelo financiamento e incentivo à pesquisa.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais	1
1 Introdução	1
2 Revisão Bibliográfica	4
2.1 Braquicefalia	4
2.2 Reprodução seletiva e Inbreeding	5
2.3 Malformações congênitas	8
2.3.1 Fendas orofaciais	8
2.3.2 Hidropisias fetais	12
2.3.3 Anencefalia	15
2.3.4 Disrafias abdominais	17
2.3.5 Malformações vertebrais	18
2.3.6 Displasia renal	22
2.3.7 Displasia de mitral	25
2.3.8 Malformações em sistema anogenital	26
2.3.9 Malformações em membros	29
3 Hipótese	32
4 Objetivo	33
REFERÊNCIAS	34
Capítulo 2 - Artigo científico	43
Capítulo 3 - Considerações finais	67

MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS EM CÃES BRAQUICEFÁLICOS: UM ESTUDO RETROSPECTIVO

RESUMO - Por causa do seu temperamento dócil e características peculiares, cães braquicefálicos se tornaram muito populares nos últimos anos. Para obter essas características, muitos anos de endogamia foram necessários e resultaram em um alto grau de homozigose e com isso, muitos genes deletérios se manifestaram. Ao mesmo tempo, temos visto um aumento nos relatos de caso de malformações congênitas, especialmente em raças braquicefálicas. O objetivo deste estudo foi observar a frequência de malformações em cães braquicefálicos comparados a outras raças puras e mestiças. Para isso, os registros médicos das fêmeas gestantes atendidas entre janeiro de 2017 e dezembro de 2021 foram recuperados do sistema computadorizado do Hospital Veterinário e analisados um por um. Após uma rigorosa seleção, setecentos e sessenta e oito neonatos de cento e sessenta e oito ninhadas foram selecionados. Dessas ninhadas, 72,6% (122/168) eram braquicefálicas. Malformações foram diagnosticadas em cinquenta e dois filhotes, com uma incidência de 6,77% (52/768). Das trinta e duas ninhadas que produziram filhotes malformados, vinte e oito eram braquicefálicas (87,5%). No total, vinte e três tipos de malformações foram registrados, sendo as mais comuns Fenda Palatina (1,30%) e Anasarca (1,17%). 19,23% (10/52) dos filhotes apresentaram mais de uma malformação aparente. A respeito do tipo de parto, cesarianas eletivas totalizaram 66,6% dos nascimentos e o número se justifica pela frequência de atendimento de raças predispostas a distocia atendidas no Hospital Veterinário. Vinte e nove prontuários foram excluídos devido à falta de dados. A ausência de dados no histórico médico que justifique outras causas (como deficiências nutricionais, uso de fármacos, infecções ou radiação) somadas à baixa incidência de malformações em outras raças, nos direciona ao fator genético que envolve as raças braquicefálicas. Muitas gerações de inbreeding resultaram em uma população quase que totalmente homozigota o que aumenta a probabilidade de malformações. Esse cenário nos chama a olhar com mais cuidado para a forma como essas raças são reproduzidas.

Palavras-chave: neonato, defeitos congênitos, inbreeding, braquicefálicos, malformações.

CONGENITAL MALFORMATIONS IN BRACHYCEPHALIC DOGS: A RETROSPECTIVE STUDY

ABSTRACT - Because of their docile temperament and peculiar features, brachycephalic dogs have become more popular in the last years. To obtain these characteristics, many years of inbreeding were needed that resulted in a high degree of homozygosity, and with it, more deleterious genes manifested. At the same time, we have seen an increase of reported cases of congenital malformations especially in brachycephalic breeds. The aim of this study was to observe the frequency of malformations in brachycephalic dogs compared to other pure and mixed breeds (MB). Therefore, medical records of pregnant bitches attended between January 2017 to December 2021 were retrieved from the Hospital's computer system and analyzed one by one. After a rigorous selection, seven hundred sixty-eight neonates born from one hundred and sixty-eight litters were included. Of these litters, 72.6% (122/168) were brachycephalic. Malformations were seen in fifty-two puppies, with an incidence of 6.77% (52/768). Of the thirty-two litters that produced malformed pups, twenty-eight were brachycephalic (87.5%). In total, twenty-three types of malformations were registered, the most common being cleft palate (1.30%) and anasarca (1.17%). 19.23% (10/52) of the puppies had more than one apparent malformation. Regarding the type of delivery, elective cesarean sections totaled 66.6% of births and the number is justified by the frequency of breeds predisposed to dystocia consulted at the veterinary hospital. Twenty-nine files were excluded due to a lack of data. The absence of data in the medical history that could justify other causes (such as nutritional deficiencies, drug use, infections, or radiation) added to the low incidence of malformation in other breeds, directs us to the genetic factor involving brachycephalic breeds. Many generations of inbreeding result in an almost completely homozygous population which increases the probability of malformations. It calls us to a more careful look at the way that these breeds are reproduced.

Keywords - neonate, congenital defects, inbreeding, brachycephalic, malformation.

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

1 Introdução

Neonatologia é o ramo da medicina que se dedica aos cuidados com os recém-nascidos. Há divergência entre autores sobre a duração desse período nas espécies canina e felina, mas a maioria considera as primeiras 2 a 3 semanas de vida, nas quais o filhote é totalmente dependente da mãe (Casal, 2010).

O período de transição fetal-neonatal é marcado por intensas mudanças devido a adaptação do meio intra-uterino para o extra-uterino e, por esse motivo, o paciente recém-nascido apresenta características fisiológicas muito particulares. Neonatos possuem alta quantidade de gordura marrom, são incapazes de produzir calor por tremor ou realizar constrição periférica, o que os torna suscetíveis à hipotermia. Sua pele é fina e elástica, apresentando alta razão superfície/volume, favorecendo a perda de calor e de umidade natural. Essa característica somada à imaturidade renal, predispõe a desidratação. Seu requerimento energético é alto, e possui pouca capacidade de armazenar glicogênio, o que os torna sensíveis também à hipoglicemia. (Casal, 2010; Indrebø et al., 2017). A imaturidade fisiológica desses pacientes os torna extremamente vulneráveis, o que leva a altíssimas taxas de mortalidade.

A literatura traz dados bastante divergentes, mas estima-se que a taxa de mortalidade neonatal esteja entre 6,9 e 17% (Tonassen et al., 2012; Mila et al., 2017; Indrebø et al., 2017). Entre as principais causas de morte, notam-se hipoxia, baixo peso ao nascimento, trauma, hipoglicemia, diarreia, síndrome do definhamento e defeitos congênitos (Gill, 2001; Indrebø et al., 2017).

Atender um paciente tão peculiar, frequentemente é um desafio ao Médico Veterinário e se acrescentarmos a esse cenário a existência de uma malformação congênita, a abordagem é ainda mais desafiadora.

Malformação congênita é um desvio na morfologia ou função normal que ocorre na gestação e que é severo o suficiente para prejudicar a vida ou bem estar da prole (Pettersen e Kutzler, 2011)

Estudos estimam que a incidência de malformações congênitas esteja em torno de 6,7 a 6,95% (Batista et al., 2014; Pereira et al., 2019) e que a taxa de mortalidade devido à malformações pode chegar a 15% (Gill, 2001). As causas de malformações

podem ser ambientais, incluindo infecções, poluentes, metais pesados, toxinas, fármacos e deficiências nutricionais ou genéticas, sendo que certas raças como buldogue inglês, pug, boston terrier e buldogue francês parecem ter maior predisposição (Petterson & Kutzler, 2011).

Justamente essas raças têm passado por um 'boom' de popularização nos últimos anos. No Reino Unido, por exemplo, em 2018 o número de buldogues franceses superou o de labradores, que até então era a raça mais procurada (Kennel Clube, 2018). Essa popularidade se dá principalmente pelas características físicas marcantes e o temperamento dócil, sendo esses fatores mais importantes para os tutores na escolha da raça do que os problemas de saúde enfrentados pelos buldogues (Sandøe et al., 2017)

Originalmente, a seleção de animais era direcionada para habilidades como caça, guarda e pastoreio. Desde meados do século 19, os cães têm sido cada vez mais mantidos como animais de companhia e hoje já atingiram o status de membro da família (FECAVA e FVE, 2018; Schmidt e Ondreka, 2019). Essa mudança no perfil familiar trouxe duas principais implicações: 1. a seleção de cães se tornou cada vez mais focada na aparência e na 'popularidade' de certas raças, com pouca ou nenhuma ênfase no desempenho, saúde ou longevidade (FECAVA e FVE, 2018) e 2. a exigência por atendimento médico altamente especializado passou a ser algo natural (Schmidt e Ondreka, 2019).

Sandøe et al. (2017) notaram que os buldogues franceses são muito jovens quando buscam assistência veterinária por problemas de saúde pela primeira vez. Isso pode significar que os problemas de saúde nesta raça estão relacionados a doenças congênitas, mais do que a doenças adquiridas e relacionadas a idade. Além disso, nota-se que raças de cães com os tipos de características extremas observadas neste estudo podem suscitar um tipo mais profundo de apego por parte dos tutores, em relação a cães saudáveis, em parte devido à sua necessidade de cuidados adicionais (Sandøe et al., 2017). Considerando isso, é fácil perceber que o nascimento de um filhote malformado numa ninhada trará sofrimento não só ao filhote, mas também, ao seu tutor, além do prejuízo financeiro: filhotes com malformações sem tratamento frequentemente não podem ser comercializados, vêm a óbito naturalmente ou são eutanasiados e quando o tratamento é possível, muitas vezes é caro e dispendioso.

Com esse plano de fundo, estudos acerca das malformações congênitas, suas causas e incidência são cada vez mais importantes para que sejam atendidas tanto as expectativas dos tutores e criadores, quanto as necessidades do animal como indivíduo e das raças como populações.

Conclusion

In summary, the incidence of malformations in brachycephalic breeds is notably higher when compared to other morphological types, especially when considered the ones presenting with extreme traits, which can be attributed, most likely, to the high level of inbreeding. Anasarca and orofacial clefts are the most common malformations, which prompted the need for additional studies about their pathophysiology and treatment. Moreover, investigations focusing on the determination of the genetic role in malformations are of pivotal importance for the veterinarians to be able to accurately instruct breeders in the selection of animals to be acquired and reproduced, as well as to choose the appropriate prenatal care, delivery, and neonatal approach.

Conflict Of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors want to thank Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for the financial support and SORA's staff for all work involved in this research.

Support Material:

References

1. Gill, MA. (2001) Perinatal and late neonatal mortality in the dog. [Thesis]. [Faculty of Veterinary Science]: The University of Sydney
2. Smith, FO. Prenatal Care of the Bitch and Queen. In: Peterson ME, Kutzler M. Small Animal Pediatrics The First 12 Months of Life. London, England: W B Saunders Co; (2011). 1-10 doi:10.1016/B978-1-4160-4889-3.00001-2.
3. Pereira KHNP, Correia LECS, Oliveira ELR, Bernardo RB, Nagib Jorge ML, Gobato MLM, et al. Incidence of congenital malformations and impact on the mortality of neonatal canines. *Theriogenology*. (2019) 140:52–7.
4. Roman N, Carney PC, Fiani N, Peralta S. Incidence patterns of orofacial clefts in purebred dogs. *PLOS ONE*. (2019) 14(11): e0224574. doi:10.1371/journal.pone.0224574
5. Pretzer SD. Canine embryonic and fetal development: A review. *Theriogenology* (2008) 70 300–303. doi:10.1016/j.theriogenology.2008.04.029
6. Bertram S, ter Haar G, Decker S. Congenital malformations of the lumbosacral vertebral column are common in neurologically normal French Bulldogs, English Bulldogs, and Pugs, with breed-specific differences. *Veterinary Radiology & Ultrasound* (2019) 60(4):400–8. doi: 10.1111/vru.12753
7. Lackmann F, Forterre F, Brunnberg L, Loderstedt S. Epidemiological study of congenital malformations of the vertebral column in French bulldogs, English bulldogs and pugs. *Veterinary Record* (2021) e509:1-8. doi:10.1002/vetr.509
8. Couturier J, Rault D, Cauzinille L. Chiari-like malformation and syringomyelia in normal cavalier King Charles spaniels: a multiple diagnostic imaging approach. *Journal of Small Animal Practice*. (2008) (9):438–43. doi: 10.1111/j.1748-5827.2008.00578.x
9. Kopke MA, Jack MW, Baltzer WI, Wightman PF, Gal A. Dermoid Sinus Type VI associated with spina bifida and tethered cord syndrome in a French Bulldog. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. (2019) 31(2):294–7. doi:10.1177/1040638719827626
10. Monsef Y, Karaks AK, Yucel G, Hazirolu R. Pathological Features Of fetal anasarca in Pekingese Puppies. *Veterinário Hekimler Derneği Dergisi*. (2020) 91 (2): 164-168. doi: 10.33188/vetheder.687446
11. Veronesi MC, Panzani S, Faustini M, Rota A. An Apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. *Theriogenology*. (2009) 72(3):401–7.

12. Kennel Club. Brachycephalic Health. 2019.
<https://www.thekennelclub.org.uk/health/for-owners/brachycephalic-health/>
13. Felska-Błaszczuk L, Seremak B. Negative Health Changes In Brachycephalic Dogs Resulting From Breeding Pressure – A Review. *Rocz. Nauk. Zoot.* (2021) 48(1):15–28
14. Campbell H. Nursing Implications of over-breeding brachycephalic canines, focusing on British and French Bulldogs. *The Veterinary Nurse.* (2020) 11(5):235–9. doi:10.12968/vetn.2020.11.5.235
15. Cornelius AJ, Moxon R, Russenberger J, Havlena B, Cheong SH. Identifying Risk Factors for canine dystocia and stillbirths. *Theriogenology.* (2019) 128:201–6. doi:10.1016/j.theriogenology.2019.02.009
16. Smith FO. Guide Emergency Interception During Parturition in the Dog and Cat. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* (2012) 42(3):489–99. doi:10.1016/j.cvsm.2012.02.001
17. Eneroth A, Linde-Forsberg C, Uhlhorn M, Hall M. Radiographic pelvimetry for assessment of dystocia in bitches: a clinical study in two terrier breeds. *Journal of Small Animal Practice.* (1999) 40(6):257–64. doi:10.1111/j.1748-5827.1999.tb03076.x
18. Canals CA, Cavada C G, Nazer H J. Factores de riesgo de ocurrencia y gravedad de malformaciones congénitas. *Revista médica de Chile* (2014) 142(11):1431–9.
19. Oliveira P, Domenech O, Silva J, Vannini S, Bussadori R, Bussadori C. Retrospective Review of Congenital Heart Disease in 976 Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine.* (2011) 25(3):477–83. doi:10.1111/j.1939-1676.2011.0711.x
20. Kaplan JL, Gunther-Harrington CT, Sutton JS, Stern JA. Multiple midline defects identified in a litter of golden retrievers following gestational administration of prednisone doxycycline: a case series. *BMC Veterinary Research.* (2018) 14(1). 1-9 . doi:10.1186/s12917-018-1419-
21. Peralta S, Fiani N, Kan-Rohrer KH, Verstraete FJM. Morphological Evaluation Of Cleft Softlip, palate, or both in dogs. *American Journal of Veterinary Research.* (2017) 78(8):926–33. doi:10.2460/ajvr.78.8.926
22. Cunto M, Zambelli D, Castagnetti C, Linta N, Bini C. Diagnosis Treatment Foetal anasarca in two English Bulldog puppies. *Pak Vet J.* (2015) 35(2): 251-253
23. Garncarz M, Parzeniecka-Jaworska M, Szaluś-Jordanow O. Congenital heart defects in dogs: A retrospective study of 301 dogs. *Medycyna Weterynaryjna.* (2017) 73(10):651–6. doi: 10.21521/mw.5784

24. . Blanco PG, Batista P, Re N, Mattioli G, Arias D, Gobello C. Electrocardiographic Changes in Normal and Abnormal Canine Pregnancy. *Reproduction in Domestic Animals*. (2011) 47(2):252–6.
25. Blanco PG, Tórtora M, Rodríguez R, Arias DO, Gobello C. Ultrasonographic assessment of maternal cardiac function and peripheral circulation during normal gestation in dogs. *The Veterinary Journal*. (2011) 190(1):154–9.
26. Melandri M , Spalla I, Fanciullo L, Alonge S. Pregnancy Effect on Echocardiographic Parameters in Great Dane Bitches. *Animals (Basel)*. (2020) 10(11):1992
27. Estey CM. Congenital Hydrocephalus. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* (2016) 46(2):217–29.
28. Schmidt M, Ondreka N. Hydrocephalus in Animals. *Pediatric Hydrocephalus* (2019) 53–95. doi:10.1007/978-3-319-27250-4_36
29. O'Neill DG, Packer RMA, Francis P, Church DB, Brodbelt DC, Pegram C. French Bulldogs differtoother dogs in the UK in propensity for many common disorders: a Vet Compass study. *Canine Medicine and Genetics*. (2021) Dec 8(1). doi:10.1186/s40575-021-00112-3
30. Yordy J, Kraus C, Hayward JJ, White ME, Shannon LM, Creevy KE, et al. Body size, inbreeding, and lifespan in domestic dogs. *Conservation Genetics*. (2019) 21(1):137–48. doi:10.1007/s10592-019-01240-x
31. Khlát M, Khoury M. Inbreeding and Diseases: Demographic, Genetic, and Epidemiologic Perspectives. *Epidemiologic Reviews*. (1991) 13(1):28–41. doi: 10.1093/oxfordjournals.epirev.a036072
32. O'Neill DG, Jackson C, Guy JH, Church DB, McGreevy PD, Thomson PC, Brodbelt DC. Epidemiological associations between brachycephaly and upper respiratory tract disorders in dogs attending veterinary practices in England. *Canine Genetics and Epidemiology* (2015) 2:10 doi:10.1186/s40575-015-0023-8
33. Njikam IN, Huault M, Pirson V, Detilleux J. The Influence of Phylogenetic Origin on the Occurrence of Brachycephalic Airway Obstruction Syndrome in a Large Retrospective Study. *Intern J Appl Res Vet Med* 2009, 7(3)
34. Federation of European Companion Animal Veterinary Associations, Federation of Veterinarians of Europe (FVE). Position Paper On Breeding Healthy dogs: the effect of selective breeding on the health and welfare of dogs 'Health and welfare should go before looks, vets urge'. (2018) http://www.evssar.org/wp-content/uploads/2018/08/2018_06_Extreme_breeding_adopted.pdf [assessed March, 2022]