RENATA AZEVEDO DE ABREU

Desempenho respiratório na transição feto-neonatal de cães nascidos em eutocia vaginal ou cesariana eletiva

São Paulo
2018

RENATA AZEVEDO DE ABREU

Desempenho respiratório na transição feto-neonatal de cães nascidos em eutocia vaginal ou cesariana eletiva

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:
Reprodução Animal

Área de Concentração:
Reprodução Animal

Orientador:
Profa. Dra. Camila Infantosi Vannucchi

São Paulo
2018

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3714
FMVZ

Abreu, Renata Azevedo de
Desempenho respiratório na transição feto-neonatal de cães nascidos em eutocia vaginal ou cesariana eletiva / Renata Azevedo de Abreu. – 2018.
98 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, 2018.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Camila Infantosi Vannucchi.

1. Cortisol. 2. Noradrenalina. 3. Periparto. 4. Aparelho respiratório. 5. Neonatologia. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida Laet, CRB 5673-8, da FMVZ/USP.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Clearance do fluido pulmonar e desempenho respiratório na transição feto-neonatal de cães nascidos em eutocia ou cesariana eletiva.", protocolada sob o CEUA nº 8529050215 (ID 001507), sob a responsabilidade de **Camila Infantosi Vannucchi** *e equipe; Camila Infantonsi Vannucchi; Renata Azevedo de Abreu* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 19/08/2015.

We certify that the proposal "Clearance lung fluid and respiratory performance in fetal-neonatal transition of dogs born in eutocia or elective cesarean section. ", utilizing 20 Dogs (20 females), protocol number CEUA 8529050215 (ID 001507), under the responsibility of **Camila Infantosi Vannucchi** *and team; Camila Infantonsi Vannucchi; Renata Azevedo de Abreu* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 08/19/2015.

Finalidade da Proposta: Pesquisa

Vigência da Proposta: de 07/2015 a 12/2017 Área: Reprodução Animal

Origem:

Espécie:	Cães	sexo:	Fêmeas	idade:	a	N:	20
Linhagem:	raças diversas			Peso:	a		

Local do experimento:

São Paulo, 31 de outubro de 2018

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: ABREU, RENATA AZEVEDO DE

Título: **Desempenho respiratório na transição feto-neonatal de cães nascidos em eutocia vaginal ou cesariana eletiva**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: _____/_____/_____

Banca Examinadora

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Dedico aos meus pais,

meu irmão e minha eterna Yaya

AGRADECIMENTOS

Foram quatro anos de muito aprendizado, muito trabalho, muitos plantões, mas também de novas amizades, novas experiências, nacionais e internacionais, e uma nova paixão, a neonatologia!

Sou extremamente grata à **Deus** pela oportunidade e a minha **família**, pelo amor incondicional, por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos! Amo muito vocês! **Mãe** você é um grande exemplo pra mim, sua alegria e amor, iluminam as nossas vidas e suas mãos milagrosas, curam todas as tensões! Muito obrigada por tudo! **Pai** como é bom ter você conosco e vê-lo bem é um presente, agradeço muito à Deus pela sua recuperação! E **Renan** ficou feliz pelo homem que se tornou, obrigada por tudo! À **Yaya** que será sempre eterna nas minhas lembranças, muito obrigada pela sua companhia, que saudades! E à **Pand** e ao **Toy** sempre bons companheiros.

À professora **Camila**, minha querida orientadora, agradeço muito pela oportunidade de ter trabalhado nesta área tão linda da Medicina Veterinária e de ter aprendido tanto com você. Suas aulas são sempre incríveis e inspiradoras. Você é um grande exemplo de docente e de pessoa. Obrigada por ter acreditado em mim, ter me incentivado e apoiado nesses anos, foi muito bom ter o **LIAPP** como segunda casa. Meus sinceros agradecimentos por toda orientação, paciência e ensinamentos que levarei para sempre comigo!!

Ao querido **Gustavo** Zanotto, por ter me apresentado o Departamento de Reprodução Animal (VRA) parece que foi outro dia, quando tudo começou...

Sozinha jamais conseguiria realizar este trabalho, sou muito grata a todos que de alguma forma ajudaram! A todos Liappianos, da nova e velha geração, **Gi**, muito obrigada por todas as cirurgias, em horários muitas vezes inusitados, e sem muita antecedência rs. **Dani**, sua ajuda foi muito fundamental não apenas na estatística, muito obrigada por estar sempre disposto a ajudar, você foi um grande incentivador para eu entrar no doutorado. **Fer**, obrigada por me acompanhar nos meus primeiros partos, pelos ensinamentos e pela amizade. **Lê** obrigada pela parceria, amizade e risadas, foram várias noites mal dormidas, nos mais diversos lugares, sua ajuda foi fundamental, obrigada por ter cuidado tão bem da Pand quando estava fora! **Má**, muito obrigada por toda ajuda sempre, pela companhia e pelos cuidados com o cotoco. **Rê**,

obrigada por estar sempre disponível, pelas aventuras na França e pelas muitas risadas diárias. **Thay**, obrigada pela amizade, pelo apoio em todos os momentos e pelo auxílio nos partos e com os meus geriatras caninos. **Beto**, obrigada pela última e inesquecível cesariana e por ajudar nos momentos difíceis rsrs. **Clau**, obrigada pela amizade, pelas compras dos materiais e sempre disposta a ajudar e preocupada com os animais e com a gente. **João** mesmo recém-chegado, obrigada pela amizade e pelo apoio. **Cris** obrigada pela ajuda inicial no projeto e por ter sido nossa guia em Paris rs. **Li** admiro sua paixão pela neonatologia e entusiasmo para salvar todos.

A todos ICs e estagiários que ajudaram em especial, a **Biazona**, muito obrigada por ter me auxiliado nos partos e nas avaliações dos neonatos, foi muito bom ter sua companhia, era sempre divertido! À **Ana Carol** (Aninha) muito prestativa e interessada em aprender sempre mais e um amor em pessoa, obrigada por tudo! Às **Bias**, à **Gi**, à **Carol** e à **Sara** obrigada por estarem sempre disponíveis para ajudar nas cesarianas ou plantões.

À **Andressa** (Drê) por ter indicado as cadelas para as cesarianas, meus sinceros agradecimentos! Aos Veterinários **Gilberto** e **Claudir** pelos contatos de criadores e sempre dispostos a ajudar, muito obrigada! À **Lu** por ter sido nossa cirurgiã!

À **Priscila** do LDH, pelo auxílio nas dosagens de cortisol e pelos resultados das progesteronas, à **Nicole** do Departamento de Patologia Veterinária (VPT), pela ajuda nas dosagens de catecolaminas, à **Clara** do Departamento de Clínica Médica (VCM), pelo suporte nas dosagens eletrolíticas no líquido amniótico, muito obrigada!

A todos os **Professores** do **VRA**, em especial à Profa. **Claudia**, Prof. **Marcílio**, Prof. **Mayra**, Prof. **Ricardo**, Prof. **André** e Profa. **Eneiva**, muito obrigada pelos ensinamentos e pelas idas à Pirassununga nas disciplinas. Às professoras **Denise Fantoni** e **Aline Magalhães** do Departamento de Cirurgia e seus orientados **Marco** e **Lucas** pelo auxílio com as anestesias e a **Flor**, sempre muito disposta a ajudar, independente do horário, mesmo quando estava grávida, meus sinceros agradecimentos!

A todos os **pós-graduandos** do **VRA,** em especial, ao Brunão, Diego, Giulia, Luana, Nívia, Bada, Bernardo, Bruno, Danilo, Fer Jordão, Rafa, Gabriel, Mônica e Bobbie pela companhia, disciplinas juntos, churrascos e risadas.

A todos os **funcionários** do **VRA**, em especial à Harumi, Loide, Roberta, Iraílton, Luis, Belau, Camilla, dona Teresa, Jocimar, que de alguma forma ajudaram.

A todos os proprietários que nos receberam em suas casas e aos seus animais, sem eles não teria sido possível este projeto, em especial: **Sandro, Dona Encarnação, Kenia, Juliana, Verusca, Mariza, Caio, Enrico, Bruno.** E também aos donos das fêmeas que realizaram a cesariana conosco, em especial: **Ronaldo**, **Carlos**, **Luis** e **Danielle.**

As minhas amigas que sempre me apoiaram nesta caminhada, **Paolão**, **Marianão**, **Anão**, **Dayanão**, de Curitiba pra vida!! E pela inesquecível experiência sul africana!! Além da **Cláudia** e **Laurinha**, **Layara**, **Lud**, **Jô**, **Andréa**, **Marília** e **Henrique** muito obrigada pela amizade! À **Geralda**, **Carol** e todos os meus familiares, minhas tias, tios, primos, primas, obrigada por sempre estarem presentes mesmo longe!

Ao **André**, meu namorado, que apareceu no momento certo. Muito obrigada pela paciência, companhia e incentivo!

Vorrei ringraziare di cuore la professoressa **Maria Cristina Veronesi** e il professore **Fausto Cairoli** che mi hanno ricevuto molto bene in Italia e mi hanno fatto sentire a casa. È stato uma esperienza meravigliosa, ho imparato molto professionalmente e personalmente, grazie, grazie, grazie!! E alla dottoranda **Jasmine** che sempre è stata molto gentile e divertente, grazie per tutto l'aiuto e l'amizicia. Anchè ai **Mariana** e **Danilo**, grazie per aver reso questi giorni in Italia più speciali!

Voglio ringrazare anchè il professore **Alberto Prandi** e la professoressa **Antonella Comin** che sono sempre stati molto gentili e mi hanno aiutato con le analisi ormonali a Udine!! Alla **Cristina** per l'amizicia e simpatia. Grazie mille!!

À **Universidade de São Paulo**, à **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de São Paulo**, que possibilitaram este doutorado.

À **CAPES** pelo auxílio financeiro, bolsa no país e bolsa sanduíche no exterior concedidas. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

EPÍGRAFE

I thought sooner or later
The lights up above
Will come down in circles and guide me to love
But I don't know what's right for me
I cannot see straight
I've been here too long and I don't want to wait for it
Fly like a cannonball, straight to my soul
Tear me to pieces
And make me feel whole
I'm willing to fight for it and carry this weight
But with every step
I keep questioning what it's true

Fall on me
With open arms
Fall on me
From where you are
Fall on me
With all your light
With all your light
With all your light

Presto una luce ti illuminerà
Seguila sempre, guidarti saprà
Tu non arrenderti, attento a non perderti
E il tuo passato avrà senso per te
Vorrei che credessi in te stesso, ma sì
In ogni passo che muoverai qui
È un viaggio infinito
Sorriderò se
Nel tempo che fugge mi porti con te

Fall on me
Ascoltami
Fall on me
Abbracciami
Fall on me
Finché vorrai
Finché vorrai
Finché vorrai
Finché vorrai

I close my eyes
And I'm seeing you everywhere
I step outside
It's like I'm breathing you in the air
I can feel you're there

Fall on me
Ascoltami
Fall on me
Abbracciami
Fall on me
With all your light
With all your light
With all your light

(Andrea Bocelli & Matteo Bocelli – Fall on me)

RESUMO

ABREU, R.A. **Desempenho respiratório na transição feto-neonatal de cães nascidos em eutocia vaginal ou cesariana eletiva.** Respiratory performance in dogs born by vaginal eutocia or elective cesarean section in the transition from fetal to neonatal life. 2018. **98** f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

O sucesso da adaptação imediata para a vida extrauterina depende da apropriada função pulmonar. Em neonatologia humana, é estabelecido que a cesariana eletiva aumenta o risco de angústia respiratória, como resultado da reduzida remoção do fluido pulmonar. Neste contexto, este estudo objetivou avaliar a influência da condição obstétrica no desempenho respiratório dos recém-nascidos caninos no período de transição, em especial os fatores que determinam a remoção do fluido pulmonar. Para tal, foram selecionadas 20 fêmeas caninas e 37 neonatos, os quais constituíram dois grupos, de acordo com a condição obstétrica: Eutocia Vaginal (n=10 parturientes; n= 17 neonatos) e Cesariana Eletiva (n= 10 parturientes; n= 20 neonatos). A avaliação materna consistiu na dosagem sérica de cortisol e catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) em momentos pontuais no pré, intra e pós-parto. Os neonatos foram avaliados por meio do escore de vitalidade neonatal, bem como avaliação das frequências cardíaca e respiratória, aferição da temperatura corpórea e peso corporal, avaliação hemogasométrica venosa, dosagem sérica de cortisol e catecolaminas, lactatemia, glicemia, oximetria de pulso e avaliação radiográfica pulmonar em momentos pontuais no decorrer das primeiras 24 horas de vida. Adicionalmente, foi avaliado a composição eletrolítica e a concentração de cortisol no líquido amniótico de cada filhote. O parto vaginal determinou menor estresse materno, porém, maior concentração de cortisol no líquido amniótico e soro sanguíneo dos filhotes, contribuindo para melhor adaptação cardiorrespiratória e metabólica. Por outro lado, a cesariana eletiva resultou em maior estresse materno, contrariamente ao perfil hormonal dos filhotes e retardou a remoção do fluido pulmonar, resultando em hipoxemia mais severa, além de dificultar a resposta compensatória ao desequilíbrio ácido-básico sanguíneo e termorregulação. Em conclusão, a condição obstétrica impõe diferenças na adaptação pulmonar, interferindo no desempenho respiratório de cães no período de transição feto-neonatal.

Palavras-chave: cortisol, noradrenalina, periparto, aparelho respiratório, neonatologia.

ABSTRACT

ABREU, R.A. **Desempenho respiratório na transição feto-neonatal de cães nascidos em eutocia vaginal ou cesariana eletiva.** Respiratory performance in dogs born by vaginal eutocia or elective cesarean section in the transition from fetal to neonatal life. 2018. **98** f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

The success of immediate adaptation to extrauterine life depends on appropriate lung function. In human neonatology, it is established that elective cesarean section increases the risk of respiratory distress as a result of reduced pulmonary fluid reabsortion. In this context, this study aimed to evaluate the influence of the obstetric condition on the respiratory performance of canine neonates in the transition period, specially the factors that determine the removal of the pulmonary fluid. For this purpose, 20 canine females and 37 neonates were selected, according to the obstetric condition: Vaginal Eutocia (n = 10 bitches, n = 17 neonates) and Elective Cesarian Section (n = 10 bitches, n = 20 neonates). Maternal evaluations were performed to evaluate serum cortisol and catecholamines (adrenaline and noradrenaline) levels at punctual moments in pre, intra and postpartum. Neonates were evaluated for the neonatal vitality score, as well as evaluation of heart and respiratory rates, body temperature and body weight, venous hemogasometric evaluation, serum cortisol and catecholamines, blood lactate, blood glucose, pulse oximetry and radiographic evaluation during the first 24 hours of life. Additionally, the electrolyte composition and cortisol concentration in the amniotic fluid of each puppy was evaluated. The vaginal delivery determined lower maternal stress, however, a higher cortisol concentration in the amniotic fluid and neonatal blood serum, contributing to a better cardiorespiratory and metabolic adaptation. On the other hand, elective cesarean section resulted in higher maternal stress contrary to the neonatal hormonal profile and delayed the removal of the pulmonary fluid, resulting in more severe hypoxemia, besides a less efficient compensatory response to acid-base imbalance and thermoregulation. In conclusion, the obstetric condition imposes differences in pulmonary adaptation, interfering in the respiratory performance of dogs in the transition from fetal to neonatal life.

Keywords: cortisol, noradrenaline, peripartum, respiratory system, neonatology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Transporte iônico ilustrativo através da membrana das células epiteliais de revestimento do alvéolo pulmonar.....30

Figura 2. Delineamento experimental adotado para as cadelas. São Paulo, 2018.....46

Figura 3. Delineamento experimental adotado nos neonatos. São Paulo, 2018.....46

Figura 4. Classificação do grau de opacidade do parênquima pulmonar adaptado de Silva et al. (2009): (A) escore 0 para imagens sem alterações em campos pulmonares, (B) escore 1 para discreta opacificação interstício-alveolar difusa em campos pulmonares, (C) escore 2 para moderada opacificação alveolar difusa em campos pulmonares e (D) escore 3 para severa opacificação alveolar difusa em campos pulmonares.....51

Figura 5. Representação gráfica da composição eletrolítica do líquido amniótico: (A) cálcio (mg/dl), potássio (mmol/l), magnésio (mg/dl) e fósforo (mg/dl), (B) cloreto (mmol/l), sódio (mmol/l) e proteína total (mg/dl) nos distintos grupos experimentais. São Paulo – 2018.....55

Figura 6. Representação gráfica da concentração de cortisol (µg/dl) no líquido amniótico dos distintos grupos experimentais. São Paulo – 2018.....56

Figura 7. Representação gráfica do escore de vitalidade neonatal (0 a 10) nos distintos grupos experimentais (A) e ao longo dos momentos de avaliação (B). São Paulo – 2018.....58

Figura 8. Representação gráfica do escore de tônus muscular (0 a 2) (A) e de irritabilidade reflexa (0 a 2) (B) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.....58

Figura 9. Representação gráfica da frequência cardíaca (bpm) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.....59

Figura 10. Representação gráfica da frequência respiratória (mpm) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.....59

Figura 11. Representação gráfica da temperatura corporal (°C) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.....60

Figura 12. Representação gráfica da variação do peso corporal (%) nos distintos grupos experimentais ao longo de 24 horas. São Paulo – 2018.....61

Figura 13. Representação gráfica da concentração sanguínea de cálcio ionizado (mmol/l) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.....63

Figura 14. Representação gráfica da concentração sanguínea de HCO_3^- (mmol/l) (A) e BE (mmol/l) (B) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.....64

Figura 15. Representação gráfica da $PvCO_2$ (mmHg) (A) e TCO_2 (mmol/l) (H) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.....64

Figura 16. Representação gráfica da PvO_2 (mmHg) (A) e SvO_2 (%) (B) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.....65

Figura 17. Representação gráfica da SpO_2 (%) nos distintos grupos experimentais. São Paulo – 2018.....65

Figura 18. Representação gráfica da lactatemia (mmol/l) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.....66

Figura 19. Representação gráfica da concentração sanguínea de adrenalina (µg/dl) (A) e noradrenalina (µg/dl) (B), materna e neonatal nos distintos grupos experimentais. São Paulo – 2018.....69

Figura 20. Representação gráfica da concentração sanguínea de cortisol neonatal (µg/dl) (A) e cortisol materno (µg/dl) (B) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.....69

Figura 21. Diagrama gráfico das correlações estatísticas positivas nos neonatos do grupo eutocia vaginal. São Paulo, 2018.....70

Figura 22. Diagrama gráfico das correlações estatísticas negativas nos neonatos do grupo eutocia vaginal. São Paulo, 2018.....71

Figura 23. Diagrama gráfico das correlações estatísticas positivas nos neonatos do grupo cesariana eletiva. São Paulo, 2018.....72

Figura 24. Diagrama gráfico das correlações estatísticas negativas nos neonatos do grupo cesariana eletiva. São Paulo, 2018.....72

.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição eletrolítica do líquido pulmonar, plasma, linfa pulmonar e líquido amniótico de fetos ovinos com 127-145 dias de gestação.....31

Tabela 2. Poder do Teste e respectivas unidades experimentais (n) nas comparações entre os grupos (eutocia vaginal vs. cesariana eletiva) para as variáveis neonatais. São Paulo, 2018.....45

Tabela 3. Poder do Teste e respectivas unidades experimentais (n) nas comparações entre os grupos (eutocia vaginal vs. cesariana eletiva) para as variáveis maternas. São Paulo, 2018.....45

Tabela 4. Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais: Grupos experimentais (eutocia vs. cesariana) e momentos de avaliação (0 vs. 5 vs. 10 vs. 20 vs. 30 vs. 40 vs. 50 vs. 60min vs. 4h vs. 12h vs. 24h) e sua interação para a avaliação clínica neonatal. São Paulo – 2018…….57

Tabela 5. Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais: Grupos experimentais (eutocia vs. cesariana) e momentos de avaliação (0 vs. 30min vs. 60min vs.12h vs. 24h) e sua interação para a avaliação neonatal. São Paulo – 2018……..61

Tabela 6. Média e erro padrão dos valores de Na^+ (mmol/l), K^+ (mmol/l), Hematócrito (%) e Hemoglobina (g/dl) nos distintos grupos experimentais. São Paulo – 2018.....62

Tabela 7. Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais: Grupos experimentais (eutocia vs. cesariana) e momentos de avaliação (0 vs. 30min vs. 60min vs.12h vs. 24h) e sua interação para a avaliação neonatal. São Paulo – 2018…….....66

Tabela 8. Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais: Grupos experimentais (eutocia vs. cesariana) e momentos de avaliação (0 vs. 30min vs. 60min vs.12h vs. 24h) e sua interação para a avaliação neonatal. São Paulo – 2018……..67

Tabela 9. Escore de alterações radiográficas em campos pulmonares nos distintos grupos experimentais. São Paulo, 2018……..67

Tabela 10. Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais: Grupos experimentais (eutocia vs. cesariana) e momentos de avaliação (0 vs. 30min vs. 60min vs.12h vs. 24h) e sua interação para a avaliação materna e neonatal. São Paulo – 2018……..……..…...68

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Idade, raça e distribuição das fêmeas caninas (n=20) nos grupos experimentais. São Paulo, 2018.....43

Quadro 2. Parâmetros adotados para o escore de vitalidade neonatal em cães.....48

LISTA DE ABREVIAÇÕES

TTRN – Taquipneia Transitória do Recém-Nascido

SDR – Síndrome do Desconforto Respiratório

ATI – células epiteliais alveolares do tipo I ou pneumócitos tipo I

ATII – células epiteliais alveolares do tipo II ou pneumócitos tipo II

Na^+ - sódio

K^+ - potássio

Cl^- - cloro

ENaC – canais de sódio sensíveis à amilorida

Na^+K^+ATPase – bomba de sódio e potássio

CO_2 – dióxido de carbono

pH – potencial de hidrogênio

PCO_2 – pressão de dióxido de carbono

PO_2 – pressão de oxigênio

BE – *base excess* (excesso de bases)

HCO_3^- - bicarbonato

TCO_2 – dióxido de carbono total

LH – hormônio luteinizante

FC – frequência cardíaca

FR – frequência respiratória

IR – irritabilidade reflexa

TM – tônus muscular

bpm – batimentos por minuto

mpm – movimentos respiratórios por minuto

SpO_2 – saturação periférica de oxigênio

SvO_2 – saturação venosa de oxigênio

µL – microlitro

mg/dl – miligrama/decilitro

mmol/l – milimol por litro

µg/dl – micrograma por decilitro

g/dl – grama por decilitro

mmHg – milímetros de mercúrio

LLD – latero-lateral direita

LLE – latero-lateral esquerda

VD – ventro-dorsal

kV – quilovolts

mAs – miliamperagem

ELISA – ensaio imunoenzimático

HHA – eixo hipotálamo hipófise adrenal

UI – unidades internacionais

11 β-HDS2 – 11 β- hidroxiesteróide desidrogenase 2

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 24
1.1 HIPÓTESE 26
1.2 OBJETIVOS 26
2 REVISÃO DE LITERATURA 28
2.1 MORFOGÊNESE PULMONAR 28
2.2 ESTRUTURA DO EPITÉLIO ALVEOLAR 29
2.3 FORMAÇÃO E REMOÇÃO DO FLUIDO PULMONAR 30
2.4 AÇÃO DAS CATECOLAMINAS E CORTISOL 33
2.5 ANÁLISE DO LÍQUIDO AMNIÓTICO 34
2.6 INFLUÊNCIA DO TIPO DE PARTO NO DESEMPENHO RESPIRATÓRIO NEONATAL 35
2.7 FISIOLOGIA DO NEONATO CANINO 36
2.8 DIAGNÓSTICO DOS DISTÚRBIOS RESPIRATÓRIOS 38
3 MATERIAL E MÉTODOS 42
3.1 ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS 42
3.2 ANÁLISE DO PODER DE TESTE PARA O NÚMERO AMOSTRAL UTILIZADO NO DESENHO EXPERIMENTAL 45
3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 47
3.3.1 Avaliação da composição eletrolítica e da concentração de cortisol no líquido amniótico 47
3.3.2 Avaliação da vitalidade (Escore Apgar) e clínica neonatal 47
3.3.3 Peso corporal 48
3.3.4 Saturação periférica de oxigênio 49
3.3.5 Avaliação hemogasométrica venosa 49
3.3.6 Avaliação da glicemia e lactatemia 49
3.3.7 Avaliação radiográfica pulmonar 50
3.3.8 Avaliação do perfil hormonal 51
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA 52
4 RESULTADOS 55
4.1 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO ELETROLÍTICA E DA CONCENTRAÇÃO DE CORTISOL NO LÍQUIDO AMNIÓTICO 55
4.2 PARÂMETROS CLÍNICOS NEONATAIS 56

4.3 PESO CORPORAL 60
4.4 HEMOGASOMETRIA VENOSA E SATURAÇÃO PERIFÉRICA DE O_2 61
4.5 GLICEMIA E LACTATEMIA 66
4.6 AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA PULMONAR 67
4.7 PERFIL HORMONAL SANGUÍNEO DOS NEONATOS E FÊMEAS PARTURIENTES 68
4.8 ANÁLISE DE CORRELAÇÃO 70
5 DISCUSSÂO 74
6 CONCLUSÃO 83
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 85

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o Brasil é considerado um país de grande importância para o mercado pet, com valiosas criações de animais de raça. Além disto, as mudanças socioeconômicas permitiram que os cães ocupassem um papel de destaque no âmbito familiar. No entanto, apesar do grande interesse na Medicina de Pequenos Animais, o conhecimento técnico-científico em perinatologia canina ainda é reduzido e encontra-se mais restrito à esfera acadêmica. Consequentemente, a assistência neonatal aos cães é notavelmente inferior àquela aplicada em neonatologia humana (LUCIO et al., 2009; VASSALO et al., 2015).

O alto valor financeiro e o apego afetivo pelos cães e suas ninhadas tornam as perdas neonatais indesejáveis. Entretanto, a mortalidade perinatal na espécie canina é relativamente alta, com índices superiores a 30%. As causas são complexas e podem estar relacionadas ao filhote, à mãe, ao parto ou a agentes infecciosos (INDREBO; TRANGERUD; MOE, 2007; TONNESSEN et al., 2012). A maior taxa de óbito neonatal ocorre no parto e nas primeiras 24 horas de vida, ou seja, no período de transição feto-neonatal (INDREBO; TRANGERUD; MOE, 2007). A mudança mais crítica deste período está relacionada ao início da respiração pulmonar, a qual interfere diretamente na sobrevivência inicial do neonato (ELBAY et al., 2016). Na vida intra-uterina, os pulmões fetais estão repletos de fluido, secretado principalmente pelo epitélio pulmonar (OLVER; WALTERS; WILSON, 2004). Imediatamente após o nascimento, a rápida remoção do fluido pulmonar é essencial para a transição neonatal, permitindo o início da respiração por ar (HILLMAN et al., 2012).

O parto na espécie canina é um processo longo, mesmo nas melhores condições fisiológicas (GRUNDY, 2006). As contrações uterinas durante o parto determinam breves períodos de hipóxia, estimulando a liberação fetal de catecolaminas e cortisol, os quais possuem diversas funções na preparação do organismo para a vida extrauterina (MARTIN; CRUMP, 2003). No epitélio pulmonar, diminuem a produção e secreção epitelial, ativam os canais de sódio (responsáveis pela reabsorção de fluidos pulmonares) e ainda estimulam a síntese e secreção de surfactante (MAHONEY; JAIN, 2013). Desta forma, os mecanismos responsáveis pela remoção do fluido pulmonar e o desempenho respiratório no neonato estão

relacionados à maturidade pulmonar fetal e o desencadeamento do parto (COHEN; CARSON, 1985; SILVA et al., 2015). Ademais, a passagem pelo canal do parto, juntamente com as contrações dos músculos da parede torácica dos fetos aceleram a remoção de fluidos pulmonares (STOCKX et al., 2007). Em humanos, as alterações nos padrões respiratórios e cardiovasculares que marcam a transição da vida fetal para a neonatal são concluídos apenas após o primeiro dia de vida (STRANGE, 2001), tornando, de fato, o período de transição crítico para a sobrevivência neonatal.

Diversos estudos demonstraram maior incidência de complicações respiratórias em bebês nascidos de cesariana eletiva (JAIN; EATON, 2006; BEN HAMIDA NOUAILI et al., 2010). Em mulheres, a cesariana eletiva resulta em menores concentrações circulantes de adrenalina, noradrenalina e cortisol, tanto nas mães como nos recém-nascidos, em comparação ao parto vaginal (VOGL et al., 2006; ELBAY et al., 2016). Desta forma, a inadequada remoção do fluido pulmonar é patognomônico da Taquipneia Transitória do Recém-Nascido (TTRN) e pode contribuir para a Síndrome do Desconforto Respiratório (SDR) neonatal (O'BRODOVICH, 1996). Em cães, Silva et al. (2015) atestaram que filhotes nascidos por cesariana apresentam menor vitalidade, desempenho respiratório e termorregulação, comparando-se a filhotes nascidos de parto vaginal. Ainda, a depressão respiratória causada pelos agentes anestésicos pode retardar a remoção do fluido pulmonar (SILVA et al., 2008), embora a cesariana eletiva seja um procedimento obstétrico comum em pequenos animais, principalmente em raças braquicefálicas ou valiosas (SMITH et al., 2007; TRAAS, 2008).

Desta maneira, há necessidade de melhor compreender a influência da condição obstétrica no desempenho respiratório dos recém-nascidos no período de transição, em especial os fatores que determinam a remoção do fluido pulmonar na transição feto-neonatal.

1.1 HIPÓTESE

As distintas condições obstétricas (eutocia vaginal ou cesariana eletiva a termo) impõem diferenças nos níveis de catecolaminas e cortisol no periparto de cadelas e neonatos, influenciando a remoção do fluido pulmonar. Desta maneira, acreditamos que neonatos nascidos por cesariana eletiva apresentam menor vitalidade no período de transição, bem como alterações no padrão respiratório e inadequada troca gasosa pulmonar e oxigenação.

1.2 OBJETIVOS

Em face do exposto, os objetivos deste estudo foram:

1. Avaliar a influência da cirurgia cesariana (eletiva) sobre os padrões de respiração, conteúdo alveolar e trocas gasosas no período de transição em neonatos caninos;
2. Comparar as concentrações séricas de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) e cortisol no periparto de cadelas e no período de transição em neonatos, de acordo com a condição obstétrica ao nascimento (parto vaginal ou cesariana eletiva).
3. Avaliar e comparar a composição eletrolítica e a concentração de cortisol do líquido amniótico de neonatos nascidos em eutocia via vaginal e cesariana eletiva e correlacionar com o desempenho respiratório no período neonatal imediato.

Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MORFOGÊNESE PULMONAR

Um dos eventos mais fascinantes da morfogênese é o desenvolvimento do aparelho respiratório fetal. A partir de divertículos, aparentemente simples, da endoderme do intestino anterior primitivo, ocorre a formação de um órgão complexo e ramificado, o pulmão (CARDOSO, 2004). A morfogênese pulmonar é um processo complexo, coordenado de forma precisa, o qual culmina na formação de extensa e vasta rede de canais e sáculos, revestidos por diversos tipos de células epiteliais especializadas e uma rede vascular (CARDOSO, 2004).

Durante a vida intra-uterina, ocorrem importantes alterações estruturais no desenvolvimento do sistema respiratório, para que seja possível exercer suas funções na vida extrauterina. A formação pulmonar inicia-se precocemente durante a gestação e estende-se até a vida adulta e pode ser dividida em cinco diferentes fases com base no aspecto histológico do órgão: embrionária, pseudoglandular, canalicular, sacular e alveolar. No entanto, no mesmo pulmão podem coexistir aspectos característicos de diferentes fases (MIYOSHI; GUINSBURG, 1998).

O desenvolvimento do sistema respiratório ocorre de forma centrífuga, das vias aéreas superiores para as inferiores (SIPRIANI et al., 2009). Em carnívoros, poucos são os dados referentes ao desenvolvimento pulmonar. Sipriani et al. (2009) identificaram as diferentes fases do desenvolvimento pulmonar de fetos caninos ao longo da gestação, e caracterizaram a fase pseudoglandular, entre os 35 e 46 dias gestacionais. O início dos períodos canalicular e sacular, respectivamente, nos dias 48 e 56 da gestação. Acredita-se que a produção de surfactante ocorra na fase sacular, entre 56 e 60 dias, e a maturação pulmonar somente após o nascimento, com o desenvolvimento alveolar ao longo do período neonatal (SIPRIANI et al., 2009).

Durante a fase pseudoglandular, o epitélio pseudoestratificado é progressivamente substituído por células colunares proximais e por células cuboides distalmente. As células cuboides representam células imaturas de pneumócitos tipo II. As estruturas pré-acinares são formadas, incluindo artérias pulmonares e veias (JOSHI; KOTECHA, 2007). A fase canalicular caracteriza-se pela grande proliferação

dos capilares no interstício pulmonar, pela formação da barreira alvéolo-capilar e pelo início do desenvolvimento dos ácinos, unidade respiratória composta pelos bronquíolos respiratórios, ductos alveolares, sacos alveolares e alvéolos (HISLOP, 2002). As células cuboides do epitélio respiratório, ricas em glicogênio, adquirem características de pneumócitos tipo II, com corpúsculos lamelares responsáveis pelo armazenamento do surfactante. Ainda na fase canalicular, ocorre o achatamento do epitélio acinar à custa da transformação das células do tipo II em pneumócitos do tipo I. Em humanos, durante este período, aumenta a atividade secretora das células epiteliais, dando início à formação do líquido pulmonar, canalizando as vias aéreas (MIYOSHI; GUINSBURG, 1998).

Durante a fase alveolar inicia-se o alongamento e afilamento dos septos secundários em direção ao espaço aéreo. No início da alveolarização, tanto o septo primário como secundário contêm em seu interior uma dupla rede de capilares, de tal forma que os vasos sanguíneos entram em contato com o epitélio respiratório somente em uma das suas paredes (MIYOSHI; GUINSBURG, 1998). À medida que a alveolarização progride, observa-se mudança na estrutura do septo secundário, com transformação da dupla rede de capilares em uma única camada de vasos. Tal estruturação faz com que as duas paredes dos capilares entrem em aposição com o epitélio respiratório, viabilizando as efetivas trocas gasosas (MIYOSHI; GUINSBURG, 1998). A completa evolução do pulmão estende-se até o período pós-natal, com a expansão dos sítios de trocas gasosas as custas da alveolarização. Em humanos, cerca de 80 a 85% dos alvéolos formam-se neste período.

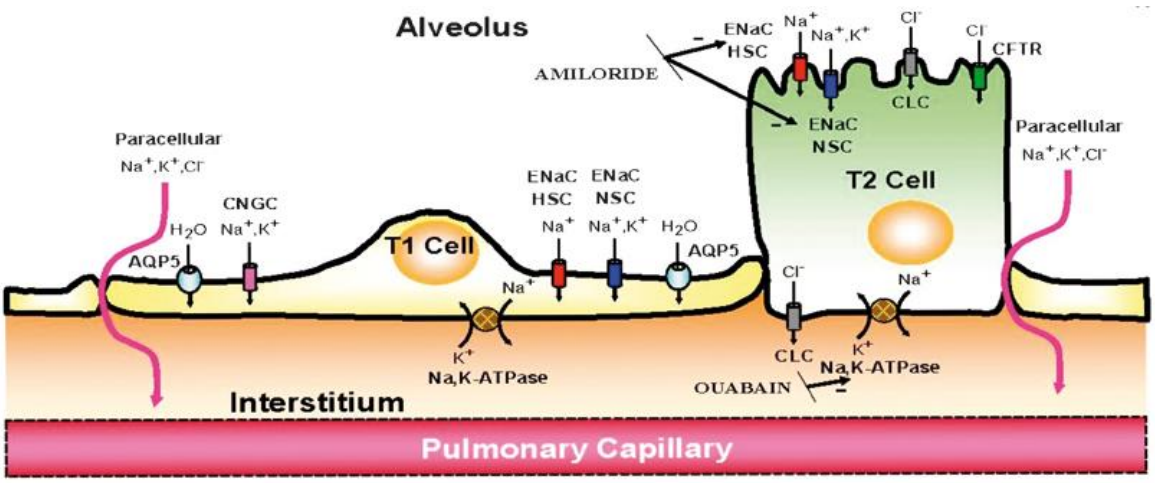
2.2 ESTRUTURA DO EPITÉLIO ALVEOLAR

Histologicamente, 95% da superfície interna dos pulmões é revestida por células epiteliais alveolares tipo I (ATI) ou pneumócitos tipo I; enquanto 5% são células epiteliais alveolares tipo II (ATII) ou pneumócitos tipo II. As células ATI são epiteliais alongadas que compõem a maior parte da parede interna alveolar e por onde ocorre a troca gasosa. Já as células ATII secretam surfactante pulmonar, o qual é responsável por reduzir a tensão superficial da água, evitando o colapso alveolar

durante inspiração e expiração respiratória, proporcionando, assim, maior área para a troca gasosa (WARE; MATTHAY, 2001).

Nas células epiteliais pulmonares, os transportadores de íons e outras proteínas de membrana estão distribuídos assimetricamente na superfície celular, conferindo propriedade de transporte vetorial às células epiteliais polarizadas (WARE; MATTHAY, 2001). As células ATII realizam o transporte vetorial de sódio, através dos canais de sódio sensíveis à amilorida (ENaC) e Na^+-K^+-ATPase (figura 1) (FOLKESSON; MATTHAY, 2006).

Figura 1. Transporte iônico ilustrativo através da membrana das células epiteliais de revestimento do alvéolo pulmonar (JAIN, 2008).



2.3 FORMAÇÃO E REMOÇÃO DO FLUIDO PULMONAR

Grande parte do atual conhecimento sobre a dinâmica do fluido pulmonar fetal decorre de estudos no modelo fetal ovino (JAIN; EATON, 2006). A presença de fluido nos pulmões de fetos ovinos foi encontrada com 69 dias (OLVER; SCHNEEBERGER; WALTERS, 1981) e, em humanos, no começo da 6ª semana de gestação (McCRAY; BETTENCOURT; BASTACKY, 1992). Em ovinos, no final da gestação, o fluido pulmonar demonstrou ser rico em cloro, pobre em bicarbonato e praticamente ausente

de proteína (ADAMSON et al., 1969), diferentemente da composição do líquido amniótico e do plasma fetal, conforme demonstrado na tabela 1.

Tabela 1. Composição bioquímica do líquido pulmonar, plasma, linfa pulmonar e líquido amniótico de fetos ovinos com 127-145 dias de gestação (ADAMSON et al., 1969).

	Na^+ (mEq/l)	K^+ (mEq/l)	Cl^- (mEq/l)	HCO_3^- (mEq/l)	Proteína (g/dl)
Líquido pulmonar	150±1	6,3±0,7	157±4	2,8±0,3	0,027±0,002
Plasma	150±1	4,8±0,2	107±1	24±1	4,09±0,26
Linfa	147±1	4,8±0,5	107±1	25±1	3,27±0,41
Líquido amniótico	113±7	7,6±0,8	87±5	19±3	0,10±0,01

Olver & Strang (1974) demonstraram que o fluido pulmonar é secretado como resultado do transporte ativo do íon cloreto, determinando diferença de potencial elétrico através do epitélio pulmonar. A entrada do íon cloreto ocorre na superfície basolateral da célula, juntamente com os íons Na^+ e K^+. O cotransporte é dado pelo gradiente eletroquímico de Na^+, gerado pela bomba de Na^+, aumentando a concentração intracelular de Cl^-, acima do potencial eletroquímico e permitindo que este saia passivamente através dos canais de Cl^- localizados na região apical da célula, criando uma diferença de potencial transepitelial lúmen negativa; ou seja, o Na^+ sai passivamente e a água flui seguindo o gradiente osmótico estabelecido (OLVER; WALTERS; WILSON, 2004).

O fluido pulmonar direciona-se para as vias respiratórias superiores, onde encontra resistência da laringe e nasofaringe, com as cordas vocais agindo como válvula de uma via (BROWN et al., 1983). A pressão gerada pelo líquido é a principal força de expansão agindo nos pulmões, sendo crucial para o desenvolvimento pulmonar (OLVER; WALTERS; WILSON, 2004).

O volume de líquido de pulmão fetal é regulado principalmente pela resistência ao efluxo do líquido através da parte superior das vias respiratórias e pela atividade do diafragma associado aos movimentos respiratórios fetais. Durante os períodos de não-respiração, a resistência oferecida pelas vias aéreas superiores ao efluxo do líquido pulmonar é relativamente alta, dificultando a saída de líquido a partir do pulmão, mantendo, assim, a expansão do pulmão fetal (HOOPER; HARDING, 1995).

Experimentos realizados em ovinos e humanos mostraram que os movimentos respiratórios fetais resultam em movimento de líquido amniótico para as vias aéreas superiores. Kalache et al. (2002) avaliaram o fluxo de líquido intra-traqueal durante a inspiração e expiração em fetos humanos, em várias fases durante a gestação, e observaram aumento de volume de líquido durante a inspiração e expiração até 36 semanas. A partir de 36 semanas foi observado maior efluxo de líquido dos pulmões para a cavidade amniótica, sugerindo que fetos maduros apresentam maior tendência a “expirar” do que “inspirar” durante os movimentos respiratórios regulares.

Embora a secreção de líquido para o lúmen pulmonar seja vital para o desenvolvimento estrutural dos pulmões, é preciso que haja completa remoção de seu conteúdo ao nascimento, permitindo a respiração neonatal (OLVER; WALTERS; WILSON, 2004). A função respiratória após o nascimento depende da maturidade fetal prévia e da condição obstétrica, pois determinam a habilidade fetal para modular o transporte de íons requerido para a eficiente redução do fluido pulmonar ao nascimento (OLVER; SCHNEEBERGER; WALTERS, 1981; COHEN; CARSON, 1985).

Nos últimos dois dias de vida fetal, a taxa de secreção de fluido pulmonar diminui, reduzindo lentamente o volume do fluido luminal. Com o início do parto, a taxa de secreção de fluido pulmonar diminui rapidamente (PFISTER et al., 2001). O aumento da concentração de adrenalina na circulação fetal imediatamente antes do parto é um dos mecanismos desencadeadores da reabsorção do fluido pulmonar via canais de sódio sensíveis à amilorida (ENaC). O sódio é absorvido na superfície apical do epitélio alveolar via ENaC, uma proteína composta de três subunidades (α, β e γ) e amilorida-sensível e é subsequentemente bombeado pela Na^+K^+ATPase no lado basolateral. Tal processo gera um gradiente osmótico responsável pelo movimento passivo da água do lado apical do epitélio (espaço alveolar) para o lado basolateral (interstício) por via paracelular (MATTHAY et al., 2002). As contrações uterinas, juntamente com as contrações dos músculos da parede torácica do feto, aceleram a remoção do fluido pulmonar (STOCKX et al., 2007).

O líquido absorvido pelo epitélio pulmonar acumula-se no tecido conjuntivo frouxo das áreas perivasculares, onde é lentamente removido dentro de quatro a seis horas pelos sistemas vascular e linfático. A remoção de líquido pulmonar pelo sistema linfático pode variar de 11% para neonatos sujeitos ao parto vaginal (BLAND et al.,

1982) e 50% para neonatos nascidos por cesariana eletiva (HUMPHREYS et al., 1967).

2.4 AÇÃO DAS CATECOLAMINAS E CORTISOL

Os mediadores primários que preparam o feto para o nascimento e auxiliam na maturação de múltiplos órgãos são o cortisol e as catecolaminas. A maturação pulmonar fetal envolve adequada remoção do fluido pulmonar e secreção de surfactante, os quais permitem o início da respiração consistente (HILLMAN et al., 2012).

O cortisol é o principal hormônio regulador da maturação terminal do feto e para adaptação neonatal após o nascimento. O completo desenvolvimento fetal e a maturação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal fetal são importantes para o início do parto (VERONESI et al., 2016). Em humanos, o cortisol fetal aumenta em torno de 50% após 35 semanas de gestação, de acordo com a capacidade da adrenal fetal em sintetizar e liberar cortisol. Durante o parto, sua concentração quadruplica, mantendo-se em valores elevados até algumas horas após o nascimento. Quadros leves de hipóxia promovem maior liberação de cortisol fetal (HILLMAN et al., 2012).

Ao final da gestação, os efeitos do aumento do cortisol fetal estão relacionados com o metabolismo da tireoide, liberação de catecolaminas, metabolismo da glicose, capacidade digestiva do intestino, maturação da produção de surfactante, absorção do fluido pulmonar por regulação do transporte de íons e aumento dos receptores β adrenérgicos (HILLMAN et al., 2012), além de promoverem a regulação do gene, expressão de proteínas e atividade do ENaC, são importantes para a remoção do fluido pulmonar (JANER et al., 2015).

A fisiologia endócrina das catecolaminas endógenas antes e após o parto ainda não está completamente elucidada (HILLMAN et al., 2012). Recém-nascidos humanos podem liberar catecolaminas (norepinefrina, epinefrina e dopamina) a partir da medula adrenal e de outros tecidos simpáticos em resposta ao estresse, avaliado através do sangue do cordão umbilical (NEWNHAN et al., 1984). Ademais, bebês prematuros apresentam maiores níveis de catecolaminas no cordão umbilical do que bebês nascidos a termo (NEWNHAN et al., 1984). Segundo Hillman et al. (2012), a liberação

de catecolaminas durante o parto pode ser vista como o "gás" que dirige as respostas adaptativas. No entanto, a exposição fetal ao cortisol seria o "carburador", ou seja, potente regulador das respostas do recém-nascido às catecolaminas. Após o nascimento, as catecolaminas são responsáveis primeiramente pelo aumento da pressão sanguínea, adaptação ao metabolismo energético por meio da glicose e ácidos graxos e início da termogênese da gordura marrom.

2.5 ANÁLISE DO LÍQUIDO AMNIÓTICO

A análise do líquido amniótico em mulheres, por amniocentese, é uma ferramenta valiosa para avaliar o bem-estar fetal durante a gravidez e orientar clinicamente pacientes neonatais (UNDERWOOD; GILBERT; SHERMAN, 2005). Apesar do seu evidente potencial, a amniocentese ainda não é utilizada na espécie canina (GROPPETTI et al., 2015). No entanto, marcadores de maturidade pulmonar fetal e de detecção precoce de sofrimento fetal estão sendo pesquisados no líquido amniótico de cães (SILVA et al., 2015; GROPPETTI et al., 2015; BOLIS et al., 2017; BONTE et al., 2017).

Em humanos, o líquido amniótico é criado pelo fluxo de fluido a partir do pulmão e da bexiga fetal e uma parte é reabsorvido por deglutição e outra parte por transferência para a circulação fetal. O fluxo de água da placenta é um fator importante na determinação do volume de líquido amniótico e hidratação fetal. A transferência de fluido e solutos a partir da cavidade amniótica para a circulação fetal pelas membranas amnióticas ocorre por difusão passiva (gradiente osmótico) (UNDERWOOD; GILBERT; SHERMAN, 2005).

As membranas fetais podem estar envolvidas na regulação da composição do âmnion (ARALLA et al., 2012). O líquido amniótico é constituído de 98 a 99% de água, além de sódio, potássio e cloro, os quais regulam o movimento e retenção de água corporal. A capacidade de regular os níveis intra e extracelular de sódio, potássio e cloreto é um requerimento intrínseco para o equilíbrio hídrico (ARALLA et al., 2012). Nos carnívoros, o líquido amniótico tem aspecto claro, translúcido e consistência viscosa, com volume variável de 8 a 30 mL. É responsável por fornecer proteção

mecânica e nutrientes essenciais para o crescimento fetal. Na sua composição bioquímica, encontra-se quantidades variadas de potássio, magnésio, glicose, creatinina, ácido úrico e ureia e grandes quantidades de sódio, cloreto, fósforo, frutose, ferro, hormônios e enzimas (TONIOLLO; VICENTE, 1993).

Em humanos, as concentrações de cortisol no líquido amniótico aumentam nas últimas semanas de gestação e estão associadas à maturidade pulmonar fetal (DE FENCL; TULCHINSKY, 1975). Em cães nascidos em eutocia vaginal, Groppetti et al. (2015) observaram maiores concentrações de glicose, lactato e cortisol no líquido amniótico em comparação aos filhotes nascidos por cesariana. Entretanto, a origem do cortisol presente no líquido amniótico de cães precisa ser melhor elucidada, podendo ser oriundo da mãe, dos fetos, bem como haver o envolvimento placentário (BOLIS et al., 2017).

2.6 INFLUÊNCIA DO TIPO DE PARTO NO DESEMPENHO RESPIRATÓRIO NEONATAL

A inadequada remoção do fluido pulmonar é patognomônico da Taquipnéia Transitória do Recém-Nascido (TTRN), dificuldade adaptativa comum observada nas primeiras horas de vida (JANER et al., 2015), consequência da diminuição no transporte de Na^+, seja pela diminuição do número de transportadores ou pela ausência de ativação. Normalmente, a TTRN também está associada à deficiência de surfactante, levando ao quadro ainda mais grave da Síndrome do Desconforto Respiratório. O quadro clínico caracteriza-se por insuficiência respiratória ao nascimento, combinada a fases de taquipneia, ruído expiratório e cianose. Embora a maior parte dos recém-nascidos com desconforto respiratório transitório recuperam-se sem nenhuma consequência em longo prazo, um número significativo progride para severa insuficiência respiratória, além de exigir maior tempo de internação, aumentar o risco de doença crônica pulmonar e morte (KESZLER; CARBONE; SCHUMACHER, 1992).

A cesariana eletiva em mulheres, sem o início do trabalho de parto, aumenta o risco de angústia respiratória neonatal e a incidência da TTRN é duas vezes maior em neonatos nascidos por cesariana eletiva, em comparação ao parto vaginal

(RAMACHANDRAPPA; JAIN, 2008). Ainda, a anestesia epidural resulta em maior vitalidade neonatal ao nascimento e menor incidência de TTRN, em comparação à anestesia geral (OMAYGENC et al., 2015). Em bebês nascidos por cesariana, maior tempo é necessário para aumentar os níveis de oxigênio arterial e estabelecer adequadas trocas de gases pulmonares (HARRIS; SENDAK; DONHAM, 1986; PALME-KILANDER; TUNELL; CHIWEL, 1993). A ausência da força de compressão na região torácica fetal durante a passagem pelo canal do parto reduz o reflexo respiratório em recém-nascidos de cesariana. Ademais, a depressão respiratória causada pelos agentes anestésicos maternos pode contribuir para o maior acúmulo de fluidos no interstício pulmonar (SILVA et al., 2015).

Em Medicina Veterinária, o parto e o período neonatal imediato são pouco supervisionados. Desta forma, a cesariana eletiva em cadelas tem sido uma escolha de proprietários para aumentar a sobrevivência de crias valiosas (SMITH, 2007). Entretanto, as taxas de mortalidade neonatal em cães variam de acordo com a condição do parto: 5,5% para partos eutócicos, 33% para distocia e entre 6 e 11% para cesariana eletiva ou emergencial (MOON et al., 2000; MOON; MASSAT; PASCOE ,2001).

Durante o parto, as contrações uterinas causam redução fisiológica no fluxo sanguíneo da mãe para o feto, diminuindo a pressão de oxigênio no sangue, levando à hipóxia fetal (SIRISTATIDIS et al., 2004). Desta forma, os neonatos caninos apresentam fisiologicamente acidose sanguínea do tipo mista, associada à hipóxia ao nascimento. Após uma hora de vida, recuperam-se do componente respiratório, mantendo apenas o quadro de acidose metabólica por maior comprometimento da hipóxia (LUCIO et al., 2009).

2.7 FISIOLOGIA DO NEONATO CANINO

Ao nascimento, o ajuste de todas as novas funções vitais tais como respiração espontânea, adaptação do sistema cardiovascular, desenvolvimento de funções metabólicas específicas, redirecionamento da corrente sanguínea, aquisição de tônus muscular e sensibilização aos estímulos externos requerem tempo (CRISSIUMA et al., 2005). Desta forma, a depressão das funções vitais logo após o nascimento pode

ser considerada fisiológica, em decorrência da transição da vida fetal para a extrauterina. No entanto, em neonatos caninos, Lúcio et al. (2009) observaram recuperação adequada do escore de vitalidade neonatal aos cinco minutos de vida, devendo ser considerado o momento crítico no qual medidas médicas podem ser indicadas. Desta forma, neonatos com escore de vitalidade (0-10) entre 4 e 7 necessitam reanimação e quando inferior a 3, cuidados emergenciais (VERONESI et al., 2009).

Uma das considerações mais importantes da fisiologia cardiovascular no neonato, é o conhecimento de que a eventual bradicardia não possui origem vagal e, sim, indicativo de hipoxemia durante os primeiros quatro dias de vida (GRUNDY, 2006). No período fetal, a hipóxia causa redução nos movimentos respiratórios e falta de estímulo respiratório. No pós-parto imediato, os neonatos respondem de forma semelhante ao período fetal, com diminuição da frequência respiratória frente à elevação da pressão parcial de dióxido de carbono (PCO_2) e à diminuição de oxigênio (PO_2) (CRISSIUMA et al., 2006).

O controle neural da função respiratória está presente antes mesmo do nascimento, porém sua maturação ocorre somente no período pós-natal. O neonato é suscetível à hipóxia em razão da sua alta taxa metabólica, duas a três vezes superior ao adulto, e da imaturidade dos quimiorreceptores presentes no seio carotídeo (GRUNDY, 2006). A resposta ventilatória neonatal à hipóxia é bifásica, com elevação inicial da frequência respiratória seguida por declínio progressivo. As estimulações tátil e térmica das regiões genital ou umbilical induzem ao reflexo respiratório nos primeiros três dias após o nascimento (DAVIDSON, 2006).

Os recém-nascidos apresentam aumento do trabalho respiratório, capacidade residual funcional diminuída e menor resistência à fadiga muscular em comparação aos adultos. O aumento na ventilação-minuto em resposta à hipóxia não se mantem em neonatos. Desta forma, o tratamento da hipóxia deve ser iniciado antes do aparecimento da falência respiratória. É importante também evitar altas temperaturas ambientais (>33ºC), associadas a elevados índices de umidade relativa do ar (85 a 90%), pois reduzem a resposta ao CO_2, predispondo os recém-nascidos à insuficiência respiratória (MOON; MASSAT; PASCOE, 2001).

O sistema termorregulador não está responsivo ao nascimento, sendo o calor um fator crítico para a sobrevivência neonatal. Ao contrário do adulto, o neonato é

pecilotérmico, logo, sua temperatura corpórea está diretamente relacionada à ambiental. Ainda, possuem escasso tecido adiposo subcutâneo, superfície corpórea relativamente extensa e imaturidade hipotalâmica (JOHNSTON; KUSTRITZ; OLSON, 2001). A temperatura ambiental aproximada de 32ºC garante a normotermia dos recém-nascidos, com valores de temperatura corpórea entre 35,5ºC e 36,5ºC (VERONESI et al., 2009). As respostas fisiológicas à hipotermia incluem bradicardia, falência cardiovascular, injúria cerebral e parada gastrointestinal (JOHNSTON; KUSTRITZ; OLSON, 2001). Neonatos humanos, quando expostos ao frio durante as primeiras horas pós-natal, apresentam vasoconstrição periférica por liberação de noradrenalina. Como consequência, há estímulo ao metabolismo anaeróbico, acarretando acidose metabólica, rápida depleção nos estoques de glicogênio e hipoglicemia (FEFEBAUM; VAZ, 1993).

O acompanhamento fidedigno do peso corpóreo dos filhotes desde o nascimento é importante ferramenta para a detecção precoce de alterações (DAVIDSON, 2003). No primeiro dia de vida, o peso pode diminuir ligeiramente, devido à desidratação fisiológica do recém-nascido, podendo reduzir até 10% do seu peso ao nascimento (JOHNSTON; KUSTRITZ; OLSON, 2001). Porém, a partir do primeiro dia de vida, o ganho de peso diário dos neonatos deverá ser entre 5 a 10% do peso ao nascimento. A partir dos dois primeiros dias de vida, filhotes que não ganham peso e apresentam taxa de crescimento inicial menor ou igual a 4% possuem maior risco de morte (MILA et al., 2015).

Em função da reduzida reserva de gordura corporal, limitada capacidade metabólica para produzir glicose e imaturidade hepática, o neonato depende da alimentação para manter os níveis normais de glicogênio (DAVIDSON, 2003). Portanto, intervalos de 2 a 3 horas de jejum podem resultar em hipoglicemia neonatal (glicemia inferior a 40 mg/dl), a qual manifesta-se por incoordenação, flacidez, fraqueza ou coma (MOON; MASSAT; PASCOE, 2001).

2.8 DIAGNÓSTICO DOS DISTÚRBIOS RESPIRATÓRIOS

Os sinais clínicos iniciais do desconforto respiratório são inespecíficos e variáveis, o que dificulta o estabelecimento de sua etiologia, necessitando a realização

de exames complementares (VANNUCCHI et al., 2012a). A avaliação da frequência respiratória associada à auscultação minuciosa dos campos pulmonares e exames complementares, tais como radiografia torácica e hemogasometria sanguínea, permitem estabelecer o diagnóstico das possíveis alterações respiratórias (SILVA et al., 2009). Imediatamente após o nascimento, 78% de cães nascidos em eutocia vaginal apresentam respiração irregular associada a sons respiratórios discretos a moderados e, dentro de cinco minutos, tal índice diminuiu para 28% (SILVA et al., 2009).

A análise dos gases sanguíneos permite o diagnóstico da acidose metabólica e respiratória associadas ao nascimento e à adaptação pós-natal da respiração por ar (GREGORIO et al., 2007). A interpretação de valores hemogasométricos consiste inicialmente na avaliação do pH, seguida da análise dos valores de pressão de dióxido de carbono (PCO_2), pressão de oxigênio (PO_2), *base excess* (BE), bicarbonato (HCO_3^-) e dióxido de carbono total (TCO_2), respectivamente com o intuito de identificar alterações de origem respiratória, metabólica ou mista (ROBERTSON, 1989).

A interpretação dos resultados da hemogasometria deve ser cautelosa, em função do reflexo de asfixia ao nascimento, o qual pode ser diagnosticado pela presença de acidose metabólica, hiperlactatemia e hipóxia (ARIKAN et al., 2000). Independente da condição obstétrica, cães apresentam acidose mista ao nascimento, com baixos valores de pH, associados a baixos valores de BE, HCO_3^- e TCO_2 e aumento de pCO_2 (LUCIO et al., 2009). Adicionalmente, após a cesariana, os neonatos apresentam menores níveis de pO_2 em relação aos nascidos de parto vaginal (SILVA et al. 2009). Além disto, como exame complementar, a saturação periférica de oxigênio pode ser facilmente realizada com uso de oxímetro de pulso, permitindo a análise da oxigenação sanguínea de forma não invasiva, por meio da porcentagem de hemoglobinas ligadas ao oxigênio (GOYAL et al., 2016).

O lactato sanguíneo é um importante indicador de sofrimento fetal e neonatal, bastante utilizado na medicina perinatal humana e veterinária (KUTTAN et al., 2016). A presença de lactato em níveis elevados ao nascimento representa o uso de vias secundárias de oxigenação em decorrência da hipóxia fisiológica ou patológica durante o parto (BLICKSTEIN; GREEN, 2007). Quando o suplemento de oxigênio é reduzido drasticamente, a oxigenação tecidual é comprometida, resultando na degradação anaeróbica da glicose (BLICKSTEIN; GREEN, 2007). Na via metabólica

da glicólise, há a produção do piruvato a partir da degradação de carboidratos. Em situação de hipoxemia, o piruvato é utilizado como substrato à produção de energia por meio da via metabólica anaeróbica, na qual formam moléculas de lactato. Em neonatos caninos, a alta concentração de lactato sanguíneo foi associada à menor pontuação do escore de vitalidade neonatal e, consequentemente, à maior mortalidade neonatal (GROPPETTI et al., 2010; CASTAGNETTI et al., 2017).

O exame radiográfico do pulmão contribui para o diagnóstico diferencial de diversas afecções pulmonares e pode indicar o tratamento necessário à dependência do grau de afecção pulmonar, do conteúdo pulmonar e dos sinais clínicos do paciente (VANNUCCHI et al., 2012a). Na Medicina, as avaliações radiográficas dos pulmões de recém-nascidos são frequentemente utilizadas em unidades de terapia intensiva neonatais. São avaliados a integridade do parênquima pulmonar e conteúdo alveolar e bronquiolar de recém-nascidos com distúrbios respiratórios (VANNUCCHI et al., 2012a). Em neonatos caninos, imagens radiográficas torácicas demonstram aumento da opacidade intersticial generalizada, por haver baixo volume de ar alveolar (SILVA et al., 2009). Adicionalmente, as avaliações radiográficas do tórax podem contribuir para o diagnóstico das desordens na reabsorção de fluidos pulmonares fetais e expansão alveolar.

Material e Métodos

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado segundo as normas de bem-estar animal, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ) (protocolo nº 8529050215). As fêmeas e neonatos eram provenientes de proprietários particulares ou criadores e todos consentiram com o plano experimental e procedimentos deste estudo.

3.1 ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Para o presente experimento, foram selecionadas 20 fêmeas, clinicamente saudáveis, vacinadas e vermifugadas regularmente, com idades entre 2 e 7 anos, de diferentes raças e portes, nulíparas ou pluríparas. As fêmeas foram monitoradas durante o proestro e estro por meio de citologia vaginal, vaginoscopia e análise de progesterona plasmática para determinar o pico de LH e/ou ovulação. As inseminações artificiais ou montas naturais foram realizadas nos dias 1, 3 e 5 após a ovulação e a gestação confirmada por ultrassonografia abdominal após 30 dias da última inseminação ou monta natural.

As fêmeas, de acordo com a decisão do proprietário para o tipo de parto, foram alocadas em dois grupos experimentais:

- Grupo Eutocia Vaginal: 10 fêmeas e 17 neonatos nascidos por parto vaginal eutócico;

- Grupo Cesariana Eletiva: 10 fêmeas e 20 neonatos nascidos por cesariana eletiva a termo, após início dos sinais prodrômicos do parto.

Como critério de inclusão foram aleatoriamente selecionados no mínimo um e no máximo três filhotes de cada ninhada para constituir o mesmo grupo experimental (quadro 1).

Quadro 1. Idade, raça e distribuição das fêmeas caninas (n=20) nos grupos experimentais. São Paulo, 2018.

FÊMEA	RAÇA	IDADE (ANOS)	N° FILHOTES AVALIADOS	GRUPO
1	American Staffordshire	2	3	Eutocia vaginal
2	American Staffordshire	2	2	Eutocia vaginal
3	Pastor Belga Malinois	4	1	Eutocia vaginal
4	Golden Retriever	5	3	Eutocia vaginal
5	Golden Retriever	2	1	Eutocia vaginal
6	Golden Retriever	6	1	Eutocia vaginal
7	Golden Retriever	2	2	Eutocia vaginal
8	Doberman	3	1	Eutocia vaginal
9	Bull Terrier	4	1	Eutocia vaginal
10	Staffordshire Bull Terrier	5	2	Eutocia vaginal
11	Bulldogue Francês	4	3	Cesariana eletiva
12	Bulldogue Francês	4	2	Cesariana eletiva
13	American Bully	5	2	Cesariana eletiva
14	American Bully	5	2	Cesariana eletiva
15	Bulldogue Inglês	5	2	Cesariana eletiva
16	American Bully	4	1	Cesariana eletiva
17	Terra Nova	5	2	Cesariana eletiva
18	Staffordshire Bull Terrier	2	2	Cesariana eletiva
19	Terra Nova	2	2	Cesariana eletiva
20	Bernese Mountain Dog	6	2	Cesariana eletiva

As fêmeas que constituíram o grupo eutocia vaginal foram acompanhadas desde os pródromos do parto, momento considerado a partir da diminuição da temperatura retal (≤ 37,5°C), associada a alterações de comportamento como inquietação, diminuição do apetite, confecção de ninho, respiração ofegante e/ou presença de corrimento vaginal mucoide. Os filhotes nasceram de forma espontânea, sem auxílio obstétrico e com intervalos de nascimento inferiores a duas horas.

As fêmeas do grupo cesariana eletiva foram submetidas ao procedimento cirúrgico a termo, após o início da observação dos sinais de pródromos de parto. Adicionalmente, a concentração de progesterona sérica foi determinada e a cirurgia

foi realizada quando o resultado encontrava-se inferior a 2 ng/mL (VERONESI et al., 2018).

O protocolo anestésico adotado foi o mesmo para todas as fêmeas e consistiu de sedação com acepromazina (0,02 mg/kg) e tramadol (2 mg/kg), indução anestésica com propofol (3 mg/kg), administrado lentamente via endovenosa (VANNUCCHI et al., 2012b). Após a indução, as fêmeas foram intubadas e a anestesia foi mantida com 0,6 a 0,8 % de isoflurano em oxigênio até a realização do bloqueio epidural. A anestesia epidural foi realizada no espaço intervertebral lombossacral com cloridrato de lidocaína (4 mg/kg) e morfina (0,1 mg/kg), completando o volume com solução fisiológica para 0,36 mL/kg. A manutenção anestésica foi realizada com 0,4 a 0,6 % de isoflurano em oxigênio. O intervalo de tempo entre a indução anestésica e o início da cirurgia foi no máximo 15 minutos.

O procedimento cirúrgico consistiu de incisão na linha média ventral, desde a cicatriz umbilical até o púbis para acessar a cavidade abdominal. Após a exteriorização do útero, o corpo uterino foi incisado dorsalmente, permitindo a rápida remoção dos filhotes entre 10 e 15 minutos. Anteriormente ao clampeamento do cordão umbilical, as vias aéreas foram desobstruídas por cuidadosa aspiração com sonda uretral nº04 (Mark Med®), acoplada ao aspirador cirúrgico de secreção (Nevoni®). As primeiras inspirações foram estimuladas com massagens torácicas vigorosas. Após a estimulação inicial, realizou-se a avaliação neonatal e o cordão umbilical foi posteriormente seccionado. Após a histerorrafia e abdominorrafia, foi aplicado ocitocina (2- 4 UI) via intramuscular para facilitar a involução uterina. O tempo total de duração da cirurgia foi em média 60 minutos. As medicações pós-operatórias maternas incluíram administração de tramadol (3 mg/kg, BID, 3 dias), dipirona (25 mg/kg, TID, 5 dias) e cefalexina (30 mg/kg, BID, 7 dias).

Independente do tipo de parto, todos os neonatos mamaram o colostro após a primeira hora de vida e foram acompanhados durante a amamentação no decorrer do primeiro dia.

3.2 ANÁLISE DO PODER DE TESTE PARA O NÚMERO AMOSTRAL UTILIZADO NO DESENHO EXPERIMENTAL

A análise do poder de teste foi realizada através do aplicativo SAS Power and Sample Size 12 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA), utilizando valores de médias e erro padrão de variáveis previamente selecionadas em projeto piloto: escore de vitalidade e lactatemia para os neonatos (tabela 2), concentração de cortisol e noradrenalina sérica para as parturientes (tabela 3). Tanto as análises neonatais como maternas mostraram poder de teste acima de 0,80, demonstrando que o número de animais assegura o valor científico do experimento.

Tabela 2. Poder do Teste e respectivas unidades experimentais (n) nas comparações entre os grupos (eutocia vaginal vs. cesariana eletiva) para as variáveis neonatais. São Paulo, 2018.

	Escore de vitalidade neonatal				**Lactatemia**			
Grupos	**N**	**Poder do Teste**	**n**	**Poder do Teste**	**n**	**Poder do Teste**	**n**	**Poder do Teste**
Eutocia vaginal	51	>0,99	17	>0,99	51	>0,99	17	>0,99
Cesariana eletiva	60	>0,99	20	>0,99	60	>0,99	20	>0,99

Tabela 3. Poder do Teste e respectivas unidades experimentais (n) nas comparações entre os grupos (eutocia vaginal vs. cesariana eletiva) para as variáveis maternas. São Paulo, 2018.

	Cortisol sérico				**Noradrenalina sérica**			
Grupos	**n**	**Poder do Teste**	**n**	**Poder do Teste**	**n**	**Poder do Teste**	**n**	**Poder do Teste**
Eutocia vaginal	40	>0,99	10	>0,99	40	>0,99	20	>0,99
Cesariana eletiva	40	>0,99	10	>0,99	40	>0,99	20	>0,99

3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental adotado para as cadelas e os neonatos constam nas figuras 2 e 3, respectivamente.

Figura 2. Delineamento experimental adotado para as cadelas. São Paulo, 2018.

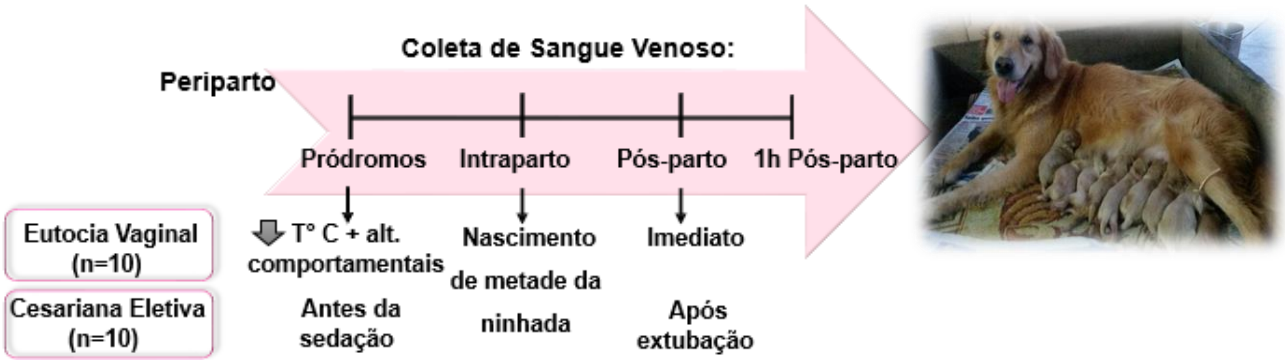
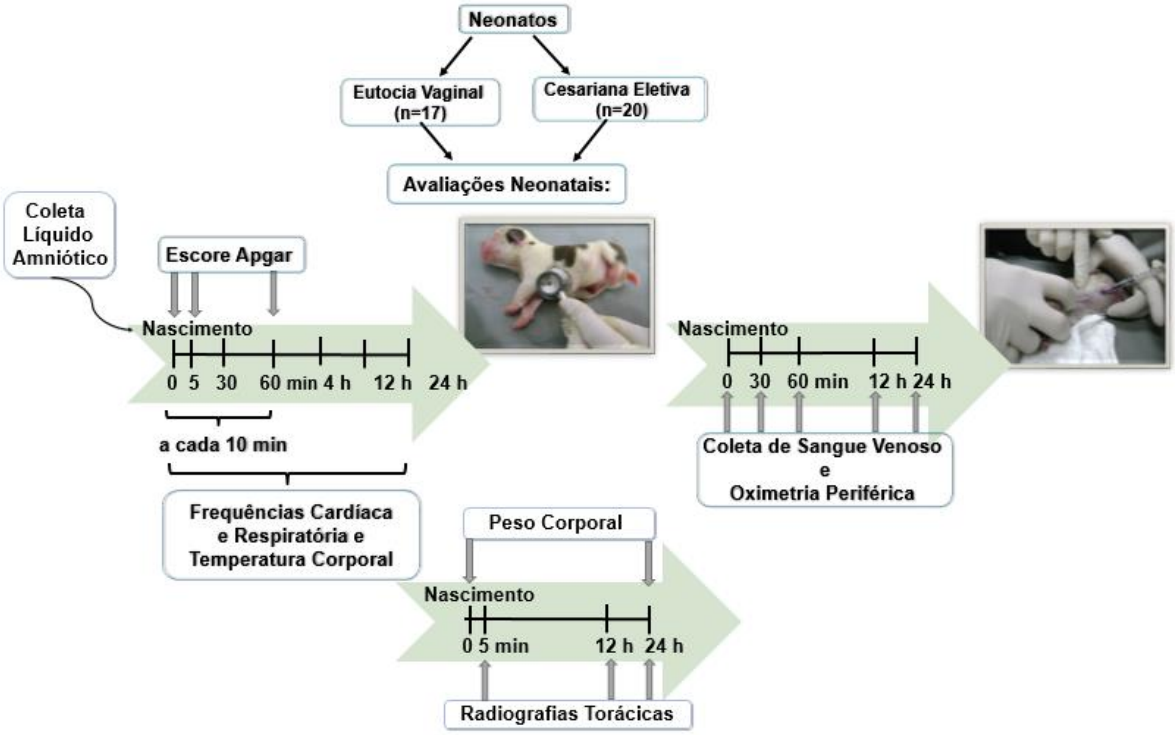


Figura 3. Delineamento experimental adotado nos neonatos. São Paulo, 2018.



3.3.1 Avaliação da composição eletrolítica e da concentração de cortisol no líquido amniótico

As amostras de líquido amniótico foram coletadas no momento do parto, a partir da membrana amniótica intacta, aspirando-se volume de 3 mL. Em neonatos nascidos de cesarianas eletivas, as amostras foram colhidas logo após a histerotomia. Todas as amostras foram armazenadas em microtubos de polipropileno (Eppendorf®) e congeladas a -20ºC até o processamento.

Para a avaliação da composição eletrólitica do líquido amniótico, as amostras foram descongeladas em ambiente refrigerado lentamente. Após a descongelação, as amostras foram centrifugadas a 1500 x *g,* sob refrigeração a 5ºC e durante 20 minutos, conforme descrito por De Vita et al. (2014). Uma alíquota de 1 mL do sobrenadante foi destinado à avaliação bioquímica.

A partir das amostras, foram determinados os valores de sódio (mmol/l), potássio (mmol/l) e cloreto (mmol/l), através do hemogasômetro (Cobas® b 121, Roche). Enquanto os valores de fósforo (mg/dl), magnésio (mg/dl), cálcio (mg/dl) e proteína total (mg/dl) do líquido amniótico foram determinados através do analisador automático bioquímico (Labmax® 240, Labtest).

A análise da concentração de cortisol no líquido amniótico foi determinada a partir de 200 µL de amostra, por meio da técnica de radioimunoensaio em fase sólida, com kit previamente validado para líquido amniótico canino por Bolis et al. (2017). A sensibilidade do ensaio foi de 90% com ligação mínima de 0,12 µg/dl e os coeficientes de variação intra-ensaio baixo e alto foram 4,8% e 8,7%, respectivamente.

3.3.2 Avaliação da vitalidade e clínica neonatal

Imediatamente após o nascimento foi realizada a limpeza e remoção do fluido amniótico presente no orifício nasal dos neonatos por cuidadosa aspiração com uso de sonda uretral nº04 (Mark Med®), acoplada ao aspirador cirúrgico de secreção (Nevoni®). As primeiras inspirações foram estimuladas com massagens torácicas vigorosas. O exame físico foi realizado por meio do escore de vitalidade neonatal,

conforme descrito por Silva et al. (2009): ao nascimento (0), após 5 e 60 minutos. As variáveis analisadas foram: frequência cardíaca (FC), frequência e esforço respiratório (FR), irritabilidade reflexa (IR), tônus muscular (TM) e coloração de mucosa, cada variável recebeu notas de 0 a 2. A somatória das notas forneceu o escore de 0 a 10 (quadro 2). Foram considerados aptos à inclusão neste experimento os neonatos com escore de vitalidade superior a 6 na avaliação aos 5 minutos de vida.

Quadro 2. Parâmetros adotados para o escore de vitalidade neonatal em cães.

Parâmetros	**Escore**		
	0	**1**	**2**
Frequência cardíaca (bpm)	Ausente	Bradicardia (< 200)	Normal (200-250)
Esforço e frequência respiratória (mpm)	Ausente	Irregular (< 15)	Regular e vocalização (15-40)
Tônus muscular	Flácido	Alguma Flexão	Flexão
Irritabilidade reflexa	Ausente	Alguma movimentação	Hiperatividade
Coloração de mucosa	Cianótica e pálida	Cianótica	Rósea

Fonte: Silva et al. (2009)

Adicionalmente, as frequências cardíaca e respiratória e temperatura retal foram avaliadas a cada 10 minutos durante a primeira hora de vida e após 4, 12 e 24 horas. Os neonatos foram mantidos em superfície aquecida durante todos os momentos de avaliação, evitando a perda de calor.

3.3.3 Peso corporal

Os filhotes foram pesados ao nascimento e às 24 horas, por meio de balança digital com escala em gramas Smart Prata (Plenna®). Para minimizar o efeito das

variadas raças e portes, considerou-se a porcentagem de variação do peso no primeiro dia de vida, através da seguinte fórmula: [(peso às 24 h – peso ao nascimento) / peso ao nascimento x 100%], adaptada de Mila et al. (2015).

3.3.4 Saturação periférica de oxigênio

A oxigenação sanguínea foi verificada de forma não invasiva, por meio de oxímetro de pulso (OxiMax N65®) posicionado na região topográfica da artéria femoral dos neonatos, fornecendo a saturação periférica de oxigênio (SpO_2, %). As avaliações foram realizadas ao nascimento, com 30, 60 minutos, 12 e 24 horas de vida.

3.3.5 Avaliação hemogasométrica venosa

A hemogasometria foi realizada imediatamente após a coleta de sangue da veia jugular, com uso de seringas e agulhas estéreis heparinizadas ao nascimento, com 30, 60 minutos, 12 e 24 horas de vida. A análise sanguínea foi realizada através do analisador clínico portátil i-STAT (Abbott®), corrigido com a temperatura corporal dos neonatos. Os parâmetros analisados foram: sódio (Na^+, mmol/l), potássio (K^+, mmol/l), hematócrito (%), hemoglobina (g/dl), cálcio ionizado (mmol/l), pH sanguíneo, pressão parcial de oxigênio e dióxido de carbono venosa (PvO_2 e $PvCO_2$, mmHg), *base excess* (BE, mmol/l), bicarbonato (HCO_3^-, mmol/l), dióxido de carbono total (TCO_2, mmol/l) e saturação de oxigênio venosa (SvO_2 , %).

3.3.6 Avaliação da glicemia e lactatemia

As análises de glicemia e lactatemia foram realizadas ao nascimento, com 30, 60 minutos, 12 e 24 horas de vida, a partir de amostras de sangue coletadas da veia jugular dos neonatos, por meio de agulhas e seringas estéreis previamente heparinizadas. Após colheita, 25 µL das amostras foram imediatamente depositadas

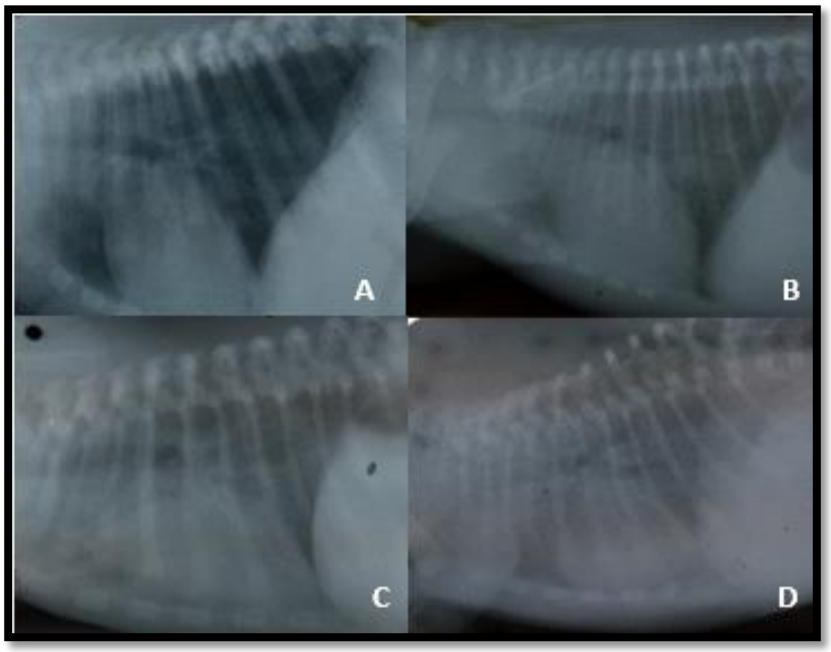
no equipamento Accutrend Plus® (Roche Diagnóstica). Os resultados de glicemia e lactatemia foram expresso em mg/dl e mmol/l de sangue, respectivamente.

3.3.7 Avaliação radiográfica pulmonar

A análise radiográfica pulmonar dos neonatos foi realizada aos 5 minutos, 12 e 24 horas de vida, a partir de três projeções (latero-laterais direita e esquerda e ventro-dorsal; LLD, LLE, VD, respectivamente). Utilizou-se equipamento de raio-X portátil (Poskom®) e filme radiográfico extra-oral oclusal Insight A4 (Kodak®). O intervalo de radiação aplicado foi de 66 a 72 kV/ 0,4 mAs e 5 cm de distância entre o foco emissor e o filme de raio-X. As radiografias foram reveladas com revelador e fixador Kodak® em câmara escura.

As imagens radiográficas foram analisadas conforme descrito por Silva et al. (2009), de acordo com o grau de opacidade do parênquima nos diferentes lobos pulmonares e classificadas de 0 a 3, conforme ilustrado na figura 4.

Figura 4. Classificação do grau de opacidade do parênquima pulmonar adaptado de Silva et al. (2009): (A) escore 0 para imagens sem alterações em campos pulmonares, (B) escore 1 para discreta opacificação interstício-alveolar difusa em campos pulmonares, (C) escore 2 para moderada opacificação alveolar difusa em campos pulmonares e (D) escore 3 para severa opacificação alveolar difusa em campos pulmonares.



3.3.8 Avaliação do perfil hormonal

Para análise do perfil hormonal de cortisol e catecolaminas, o sangue materno foi colhido por punção da veia cefálica nos seguintes momentos: pródromos do parto (1 a 6 h anterior ao nascimento ou procedimento cirúrgico), durante o parto ou cirurgia (intra-parto; ao nascimento de metade do número de filhotes), imediatamente ao nascimento do último filhote ou após a extubação, e 1 h após o término do parto ou cirurgia. O sangue dos neonatos foi colhido por punção da veia jugular com seringas heparinizadas após o nascimento, com 30, 60 minutos, 12 e 24 horas de vida.

As amostras sanguíneas foram transferidas para tubos com gel separador com ativador de coágulo e centrifugadas a 1500 x *g* por 10 minutos. O soro obtido foi aliquotado em microtubos de polipropileno (Eppendorf®) previamente identificados e acondicionados em freezer a -20ºC até a análise hormonal.

A concentração de cortisol dos soros materno e neonatal foi determinada através da técnica de radioimunoensaio utilizando kit comercial (Cortisol MP; Biomedicals®). Os resultados foram expressos em µg/dl após conversão de acordo com a curva de calibração simultaneamente preparada. A sensibilidade do ensaio foi de 90% com ligação mínima de 0,06 µg/dl e os coeficientes de variação intra-ensaio baixo e alto foram 1,35% e 6,88%, respectivamente.

As concentrações de adrenalina e noradrenalina foram determinadas pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) com kit comercial (2- CAT (A-N) Research ELISA; LDN®). Os resultados foram expressos em µg/dl, respeitando a curva padrão. A sensibilidade do ensaio para adrenalina foi 0,625 µg/dl e para noradrenalina foi 0,25 µg/dl.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram analisados utilizando o SAS System for Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA, 2000). Os efeitos dos grupos (eutocia vs. cesariana), momentos de avaliação e interação entre estes fatores foram analisados através do Proc Mixed do SAS de medidas repetidas no tempo. Quando não foram observadas interações (grupos x momentos), os efeitos dos grupos foram analisados unindo todos os momentos, de modo inverso, as avaliações de tempo foram comparadas unindo-se os grupos através da correção de Bonferroni (Proc Glimmix); caso contrário, as comparações foram realizadas levando-se em consideração os dois efeitos.

As diferenças entre os grupos foram analisadas usando testes paramétricos e não paramétricos, de acordo com a normalidade dos resíduos (distribuição normal) e homogeneidade das variâncias. Sempre que necessário, os dados foram transformados para obedecerem às premissas estatísticas. As diferenças entre os grupos foram analisadas usando teste Wilcoxon e o teste t de Student para variáveis não paramétricas e paramétricas, respectivamente. As diferenças entre os momentos de avaliação foram analisadas pelo teste LSD. As correlações de Pearson e Spearman foram utilizadas para verificar a relação entre as variáveis resposta de dados paramétricos e não paramétricos, respectivamente.

Os resultados foram descritos como média ± erro padrão. O nível de significância adotado (p) foi de 5%, ou seja, foram consideradas diferenças estatísticas significativas quando $p < 0,05$.

Valores de referência adotados neste estudo

Para a avaliação dos resultados neonatais do presente experimento, foram adotados como referência os seguintes parâmetros:

- Escore de vitalidade neonatal: > 6 (5 min) (VASSALO et al., 2015).
- Frequência respiratória: 15 a 40 mpm (SILVA et al., 2008).
- Frequência cardíaca: 200 a 250 bpm (MOON; MASSAT; PASCOE, 2001).
- Temperatura corpórea de 34,4ºC a 36°C (MOON; MASSAT; PASCOE, 2001)
- Hematócrito no primeiro dia de vida: 45 a 52,5% (GRUNDY, 2006).
- Hemoglobina no primeiro dia de vida: 14 a 17 g/dl (GRUNDY, 2006).
- Na^+ sanguíneo: 140 a 150 mmol/l (GUILLAUMIN; DIBARTOLA, 2017).
- Cálcio ionizado:1,2 a 1,5 mmol/l (O'BRIEN et al., 2014).
- K^+ sanguíneo: 4,0 a 5,5 mmol/l (KOGIKA; MORAIS, 2017).
- PO_2 de sangue venoso: 16 a 21 mmHg (LUCIO et al., 2009).
- PCO_2 de sangue venoso: 32 a 49 mmHg (LUCIO et al., 2009).
- TCO_2: 18 a 21 mmol/l (1h) (LUCIO et al., 2009).
- SvO_2: 24 a 28% (LUCIO et al., 2009).
- SpO_2: ≥ 95 % (BACH, 2017).
- HCO_3^-: 20 a 29 mmol/l (LUCIO et al., 2009).
- pH de sangue venoso: 7,27 (1h de vida; LUCIO et al., 2009), 7,34 a 7,46 (ROBERTSON, 1989).
- BE: - 4 a 4 mmol/l (ROBERTSON, 1989).
- Glicemia: 88 mg/dl (52-127 mg/dl) (GRUNDY, 2006).
- Lactato: < 5 mmol/l (GROPPETTI et al., 2010).

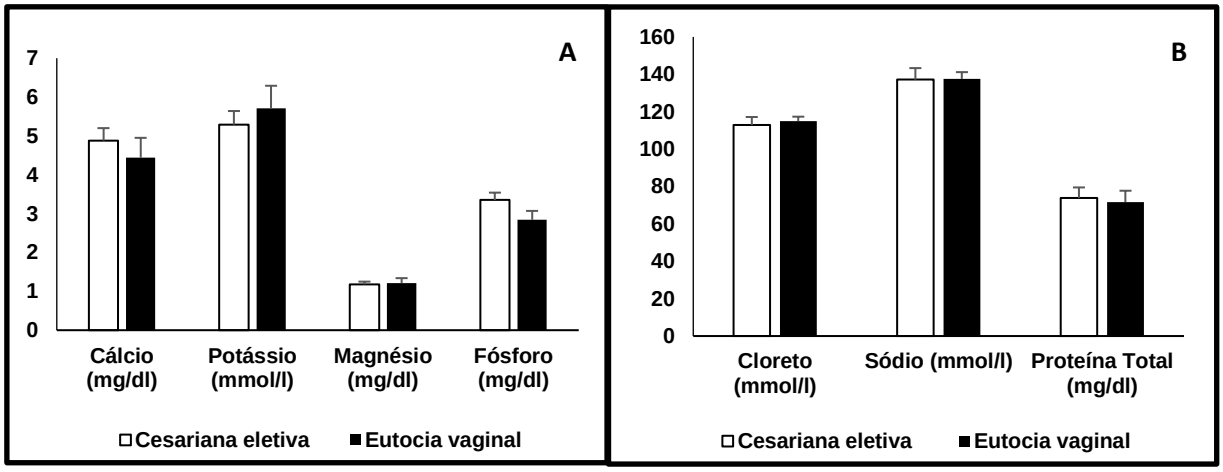
Resultados

4 RESULTADOS

4.1 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO ELETROLÍTICA E DA CONCENTRAÇÃO DE CORTISOL NO LÍQUIDO AMNIÓTICO

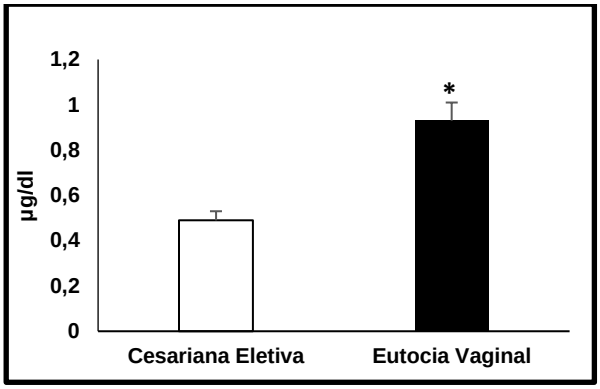
Em relação à composição eletrolítica do líquido amniótico, não houve diferença entre os neonatos nascidos em eutocia vaginal e cesariana eletiva para as variáveis analisadas: cálcio, potássio, magnésio, fósforo, cloreto, sódio e proteína total (figura 5).

Figura 5. Representação gráfica da composição eletrolítica do líquido amniótico: (A) cálcio (mg/dl), potássio (mmol/l), magnésio (mg/dl) e fósforo (mg/dl), (B) cloreto (mmol/l), sódio (mmol/l) e proteína total (mg/dl) nos distintos grupos experimentais. São Paulo – 2018.



Os neonatos nascidos em eutocia vaginal apresentaram maior concentração de cortisol (0,9 ± 0,08 μg/dl) no líquido amniótico, em comparação aos de cesariana eletiva (0,4 ± 0,04 μg/dl) (figura 6).

Figura 6. Representação gráfica da concentração de cortisol (µg/dl) no líquido amniótico dos distintos grupos experimentais. São Paulo – 2018.



*diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05).

4.2 PARÂMETROS CLÍNICOS NEONATAIS

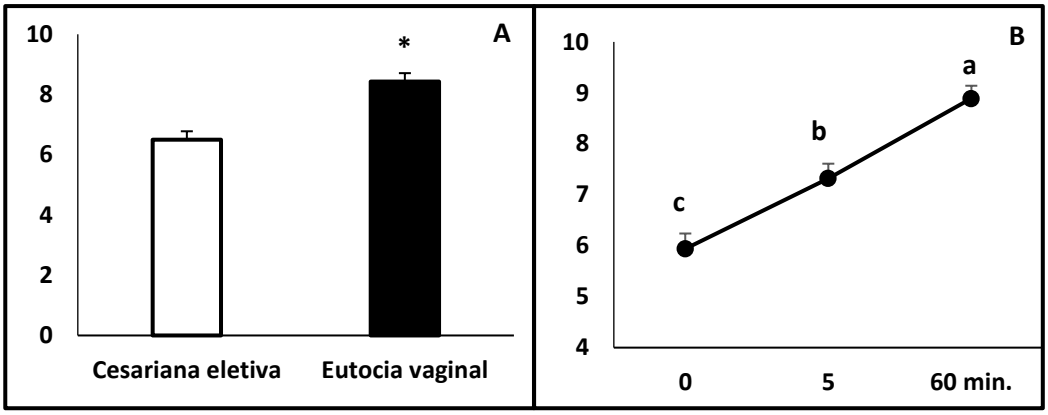
Houve interação significativa (p<0,05) entre os grupos experimentais e os momentos de avaliação para as seguintes variáveis: escore de irritabilidade reflexa, escore de tônus muscular, frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal (tabela 4). Para as variáveis escore de vitalidade neonatal e coloração de mucosa, não houve interação significativa entre os momentos de avaliação e os grupos estudados. Desta forma, foram comparadas as diferenças entre os grupos, independente do momento de avaliação.

Tabela 4. Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais: Grupos experimentais (eutocia vs. cesariana) e momentos de avaliação (0 vs. 5 vs. 10 vs. 20 vs. 30 vs. 40 vs. 50 vs. 60min vs. 4h vs. 12h vs. 24h) e sua interação para a avaliação clínica neonatal. São Paulo – 2018.

Variáveis	Grupos	Momentos	Grupos X Momentos
Escore de Vitalidade Neonatal	<0,0001	<0,0001	0,36
Escore de Irritabilidade Reflexa	<0,0001	<0,0001	**0,0002**
Escore de Tônus Muscular	0,0002	<0,0001	**0,0047**
Escore de Coloração de Mucosa	0,06	<0,0001	0,13
Frequência Cardíaca	0,19	<0,0001	**<0,0001**
Frequência Respiratória	0,0005	0,88	**<0,0001**
Temperatura Corporal	<0,0001	<0,0001	**<0,0001**

Os neonatos nascidos em eutocia vaginal apresentaram maior escore de vitalidade (8,4 ± 0,1) em comparação aos nascidos por cesariana (6,5 ± 0,2) (figura 7A). Independente do grupo experimental, os neonatos apresentaram melhora significativa da vitalidade aos 5 e 60 minutos (figura 7B). O escore de coloração de mucosa não diferiu entre os grupos eutocia e cesariana (1,7 ± 0,07 e 1,5 ± 0,06, respectivamente).

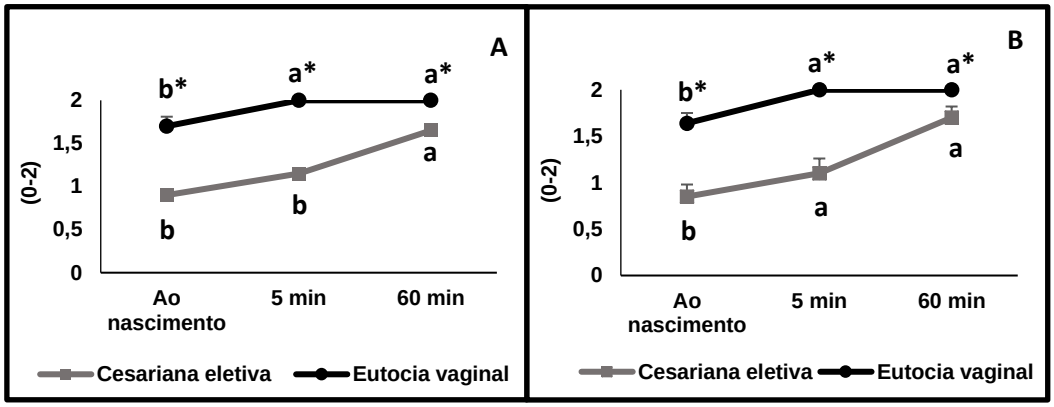
Figura 7. Representação gráfica do escore de vitalidade neonatal (0 a 10) nos distintos grupos experimentais (A) e ao longo dos momentos de avaliação (B). São Paulo – 2018.



*diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05) [a-c] diferença significativa entre os momentos de avaliação (p<0,05).

O escore de tônus muscular e irritabilidade reflexa foram superiores no grupo eutocia em todos os momentos de avaliação (figura 8).

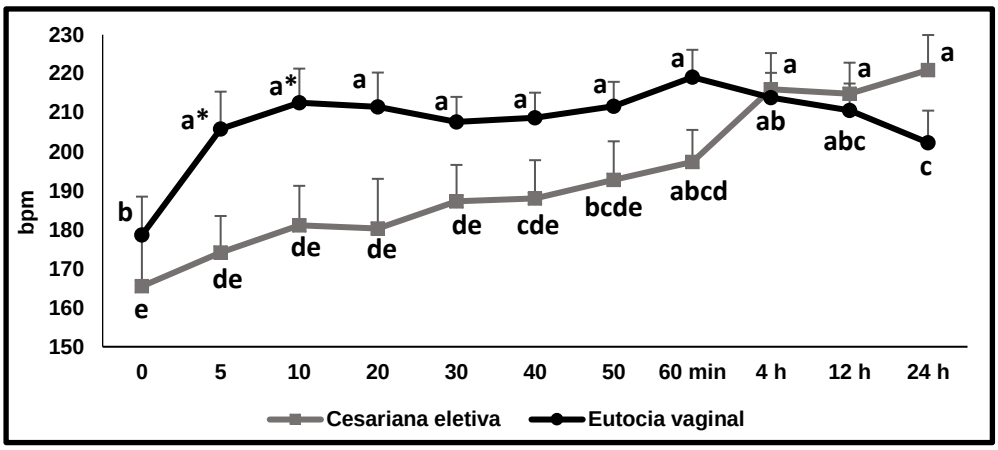
Figura 8. Representação gráfica do escore de tônus muscular (0 a 2) (A) e de irritabilidade reflexa (0 a 2) (B) nos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.



*diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05) [a-b] diferença significativa entre os momentos de avaliação (p<0,05).

Embora todos os neonatos tenham apresentado reduzida frequência cardíaca ao nascimento, os nascidos em eutocia estabilizaram-se já aos 5 minutos, enquanto aqueles nascidos por cesariana apenas após 4 horas de vida (figura 9).

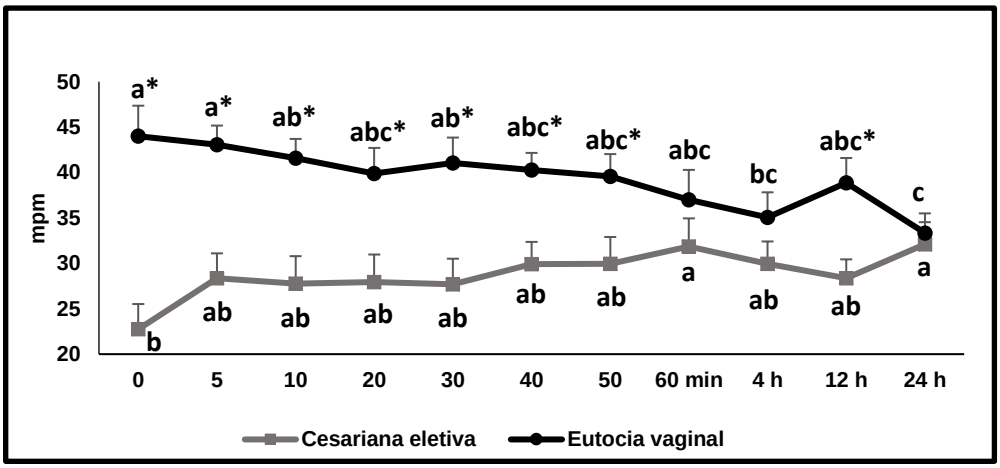
Figura 9. Representação gráfica da frequência cardíaca (bpm) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.



*diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05) [a-e] diferença significativa entre os momentos de avaliação (p<0,05).

Durante os primeiros 50 minutos, a frequência respiratória foi superior no grupo eutocia, comparando-se ao grupo cesariana (figura 10).

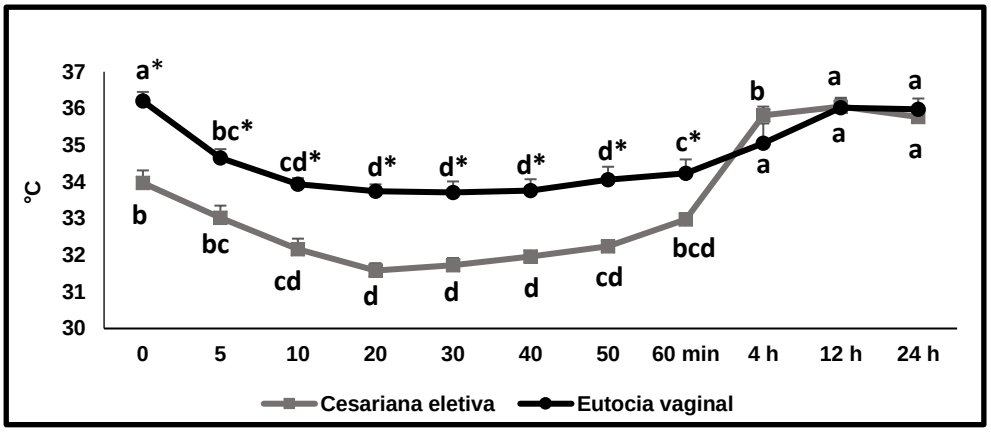
Figura 10. Representação gráfica da frequência respiratória (mpm) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.



*diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05) [a-c] diferença significativa entre os momentos de avaliação (p<0,05).

Em relação à temperatura corporal, ambos os grupos apresentaram redução ao longo dos 20 minutos de vida, porém o grupo eutocia vaginal apresentou maior temperatura corpórea em relação ao grupo cesariana a partir do nascimento até 60 minutos (figura 11). O início da termorregulação no grupo eutocia vaginal deu-se aos 60 minutos, enquanto para os filhotes nascidos por cesariana, apenas após 4 horas de vida.

Figura 11. Representação gráfica da temperatura corporal (°C) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.

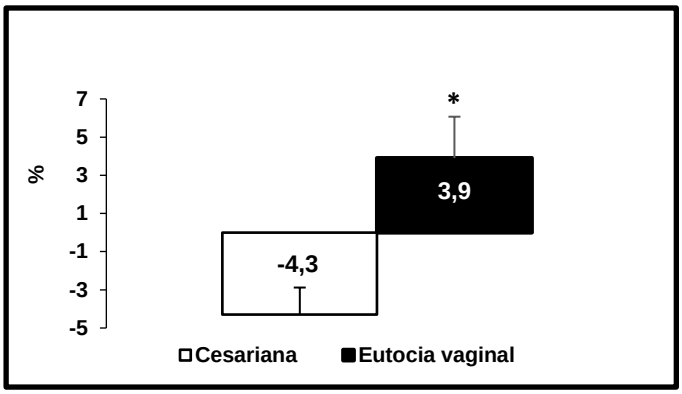


*diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05) [a-d] diferença significativa entre os momentos de avaliação (p<0,05).

4.3 PESO CORPORAL

Apenas os filhotes nascidos por cesariana apresentaram perda de peso no primeiro dia de vida, enquanto aqueles nascidos no grupo eutocia vaginal apresentaram acréscimo do peso corpóreo (figura 12).

Figura 12. Representação gráfica da variação do peso corporal (%) nos distintos grupos experimentais ao longo de 24 horas. São Paulo – 2018.



*diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05).

4.4 HEMOGASOMETRIA VENOSA E SATURAÇÃO PERIFÉRICA DE O_2

Para as variáveis cálcio ionizado, HCO_3^- , BE, $PvCO_2$, PvO_2, SvO_2 e TCO_2, houve interação entre os grupos experimentais e os momentos de avaliação (tabela 5).

Tabela 5. Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais: Grupos experimentais (eutocia vs. cesariana) e momentos de avaliação (0 vs. 30min vs. 60min vs.12h vs. 24h) e sua interação para a avaliação neonatal. São Paulo – 2018.

Variáveis	Grupos	Momentos	Grupos X Momentos
Hemoglobina	0,26	<0,0001	0,08
Hematócrito	0,25	<0,0001	0,09
Na^+	0,89	<0,0001	0,21
K^+	0,12	<0,0001	0,92
Cálcio Ionizado	0,84	0,015	**0,01**
pH	0,10	<0,0001	0,66
HCO_3^-	<0,0001	<0,0001	**0,0007**
BE	0,002	<0,0001	**0,009**
$PvCO_2$	<0,0001	<0,0001	**0,0004**
PvO_2	0,001	<0,0001	**<0,0001**
SvO_2	0,03	<0,0001	**0,001**
TCO_2	<0,0001	<0,0001	**0,0002**
SpO_2	0,04	<0,0001	0,10

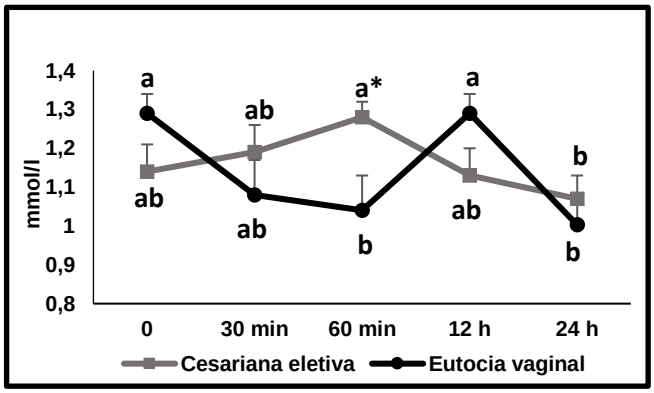
Para os valores de Na^+ e K^+ sanguíneos, não houve diferença entre os grupos. Em relação ao hematócrito e hemoglobina, os resultados foram superiores nos neonatos nascidos de cesariana eletiva em comparação ao grupo eutocia vaginal (tabela 6).

Tabela 6. Média e erro padrão dos valores de Na^+ (mmol/l), K^+ (mmol/l), Hematócrito (%) e Hemoglobina (g/dl) nos distintos grupos experimentais. São Paulo – 2018.

Parâmetros	Eutocia vaginal	Cesariana eletiva	p
Na^+	145,3±0,3	145,2±0,2	0,81
K^+	3,8±0,06	4,01±0,07	0,09
Hematócrito	41,9±1,02	44,9±0,7	**0,02**
Hemoglobina	14,2±0,3	15,2±0,2	**0,02**

Para o cálcio ionizado, aos 60 minutos, observamos valores superiores no grupo cesariana em comparação ao grupo eutocia (figura 13).

Figura 13. Representação gráfica da concentração de cálcio ionizado (mmol/l) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.

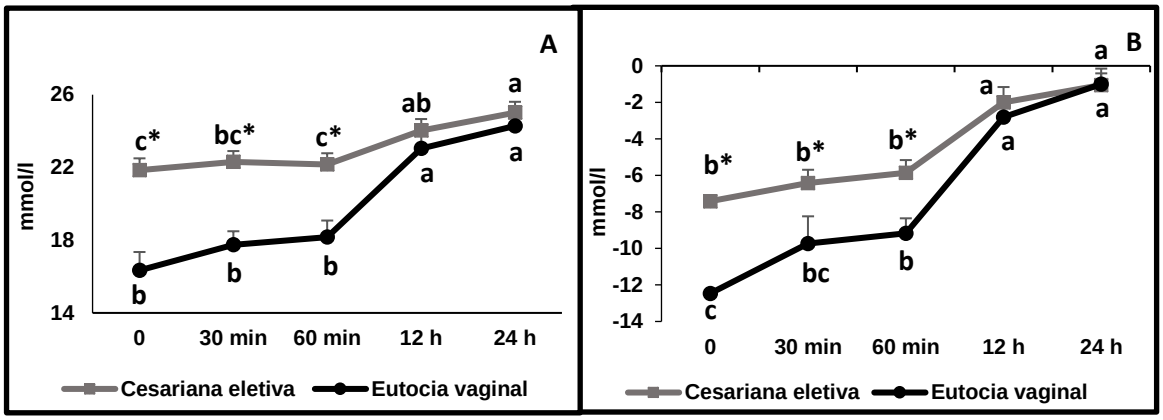


*diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05) [a-b] diferença significativa entre os momentos de avaliação (p<0,05).

Em relação ao equilíbrio ácido-base, não houve diferença entre os grupos para o pH sanguíneo, com valores de 7,29 ± 0,01 para os neonatos nascidos em eutocia e 7,26± 0,01 para o grupo cesariana. Para as variáveis HCO_3^- e BE, encontramos resultados superiores durante os primeiros 60 minutos nos nascidos por cesariana (figura 14). O grupo eutocia vaginal apresentou aumento significativo nos níveis de BE

e HCO_3^- a partir de 12 horas, enquanto os nascidos de cesariana, a partir de 12 e 24 horas, respectivamente.

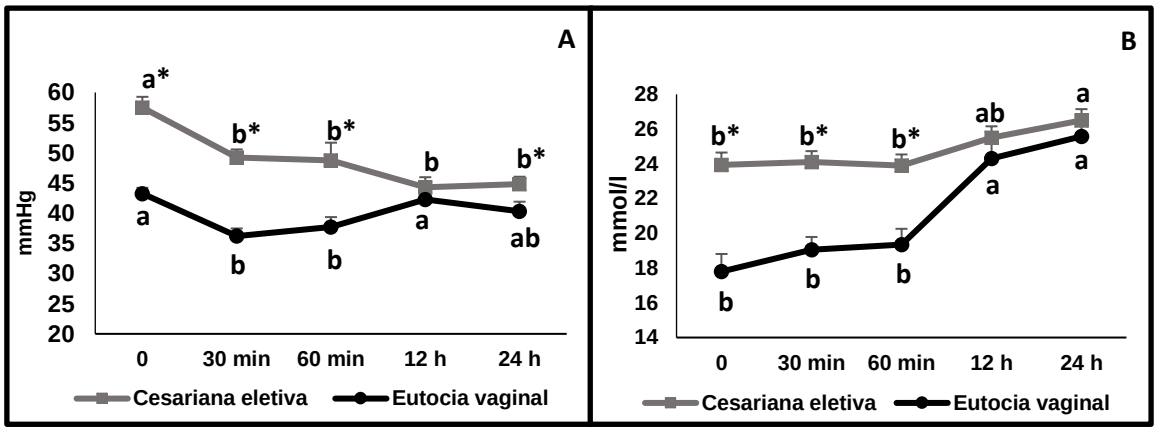
Figura 14. Representação gráfica da concentração sanguínea de HCO_3^- (mmol/l) (A) e BE (mmol/l) (B) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.



*diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05) [a-c] diferença significativa entre os momentos de avaliação (p<0,05).

A partir do nascimento até 60 minutos de vida, os neonatos nascidos em eutocia vaginal apresentaram menores valores de $PvCO_2$ e TCO_2, enquanto os filhotes nascidos por cesariana apresentaram hipercapnia (figura 15).

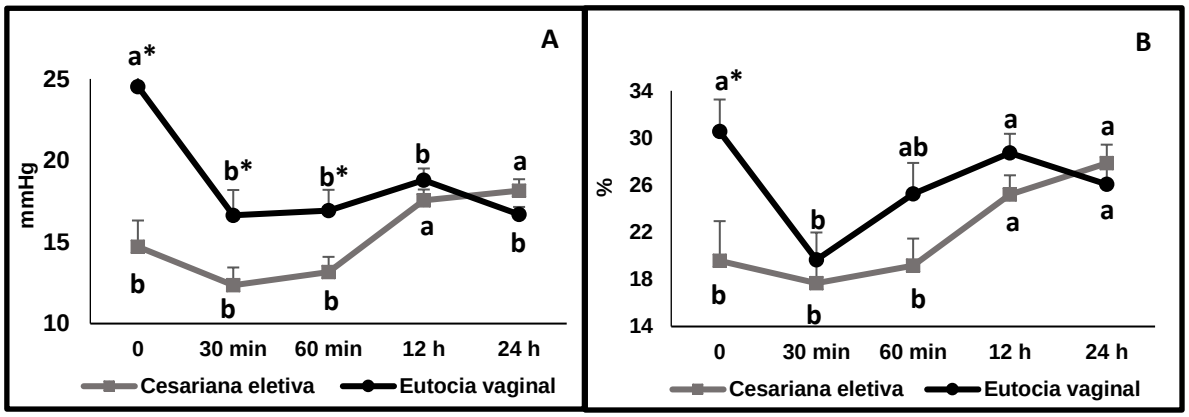
Figura 15. Representação gráfica da $PvCO_2$ (mmHg) (A) e TCO_2 (mmol/l) (B) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.



*diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05) [a-b] diferença significativa entre os momentos de avaliação (p<0,05).

Ao nascimento, a PvO_2 e SvO_2 foram superiores nos neonatos em eutocia vaginal, comparando-se ao grupo cesariana, embora com redução significativa aos 30 minutos. No entanto, a PvO_2 foi superior no grupo eutocia vaginal até 60 minutos de vida. A partir de 12 horas, observamos melhora significativa nos filhotes nascidos por cesariana (figura 16).

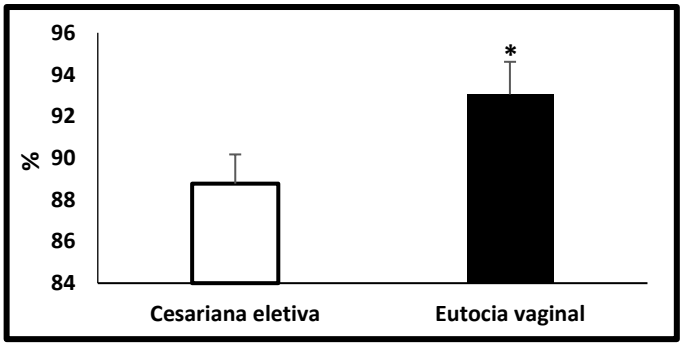
Figura 16. Representação gráfica da PvO_2 (mmHg) (A) e SvO_2 (%) (B) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.



*diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05) [a-b] diferença significativa entre os momentos de avaliação (p<0,05).

Os filhotes nascidos em eutocia vaginal apresentaram maior saturação periférica de oxigênio (oximetria) em relação aos nascidos por cesariana (figura 17).

Figura 17. Representação gráfica da SpO_2 (%) nos distintos grupos experimentais. São Paulo – 2018.



*diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05)

4.5 GLICEMIA E LACTATEMIA

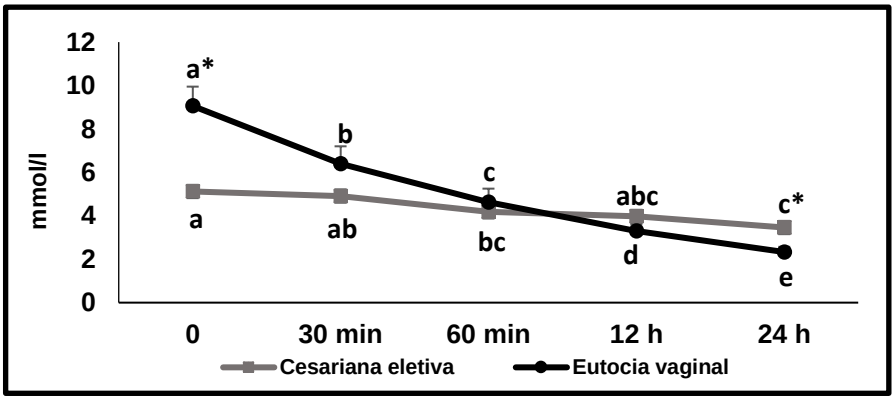
Houve interação entre os grupos e os momentos de avaliação apenas para a lactatemia (tabela 7).

Tabela 7. Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais: Grupos experimentais (eutocia vs. cesariana) e momentos de avaliação (0 vs. 30min vs. 60min vs.12h vs. 24h) e sua interação para a avaliação neonatal. São Paulo – 2018.

Variáveis	Grupos	Momentos	Grupos X Momentos
Glicemia	0,38	0,31	0,48
Lactatemia	0,29	<0,0001	**<0,0001**

Os níveis sanguíneos de glicose não diferiram entre os grupos, com valores de 88,2 ± 3,3 mg/dl no grupo cesariana e 82,2 ± 3,6 mg/dl no grupo eutocia. Já a lactatemia foi mais elevada ao nascimento nos nascidos em eutocia vaginal. No entanto, a partir do nascimento até 24 horas, houve redução progressiva da concentração de lactato sanguíneo no grupo eutocia vaginal, alcançando valores inferiores aos filhotes nascidos por cesariana às 24 horas (figura 18).

Figura 18. Representação gráfica da lactatemia (mmol/l) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.



*diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05) [a-e] diferença significativa entre os momentos de avaliação (p<0,05).

4.6 AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA PULMONAR

Para as imagens radiográficas, não houve interação entre os grupos experimentais e os momentos de avaliação (tabela 8).

Tabela 8. Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais: Grupos experimentais (eutocia vs. cesariana) e momentos de avaliação (0 vs. 30min vs. 60min vs.12h vs. 24h) e sua interação para a avaliação neonatal. São Paulo – 2018.

Variáveis	Grupos	Momentos	Grupos X Momentos
LLD	0,49	<0,0001	0,36
LLE	0,61	<0,0001	0,31
VD	0,51	<0,0001	0,83

Na avaliação radiográfica, não foi possível observar diferença entre os grupos para o escore de opacificação interstício-alveolar em campos pulmonares (tabela 9).

Tabela 9. Escore de alterações radiográficas em campos pulmonares (0-2) nos distintos grupos experimentais. São Paulo, 2018.

Imagens	Eutocia vaginal	Cesariana eletiva	p
LLE	0,84 ± 0,11	0,94 ± 0,13	0,57
LLD	0,83 ± 0,11	0,92 ± 0,12	0,61
VD	0,69 ± 0,11	0,74 ± 0,11	0,76

LLE- latero-lateral esquerda; LLD- latero-lateral direita; VD: ventro-dorsal.

4.7 PERFIL HORMONAL DO SORO SANGUÍNEO DOS NEONATOS E FÊMEAS PARTURIENTES

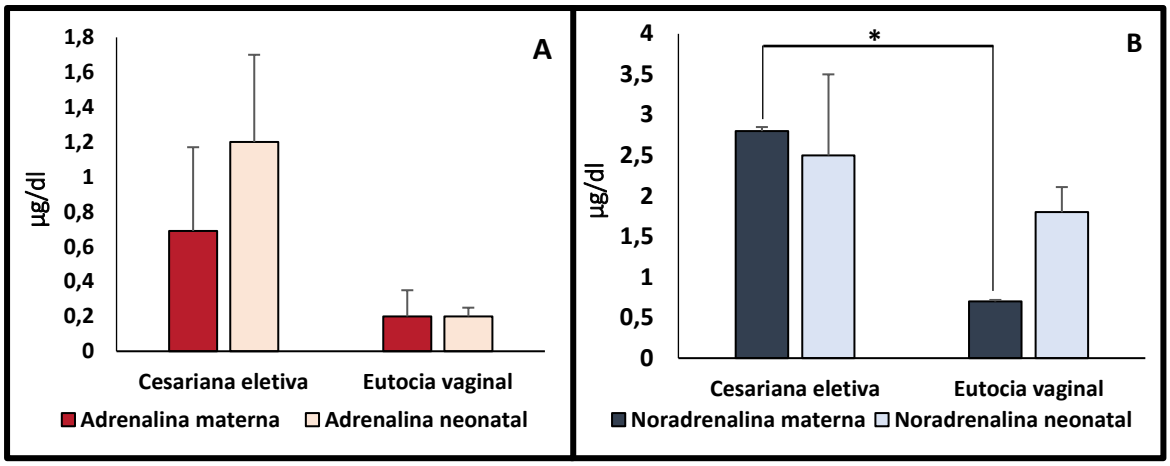
As variáveis hormonais cortisol materno e cortisol neonatal apresentaram interação entre os grupos experimentais e momentos de avaliação (tabela 10).

Tabela 10. Valores de probabilidade (p) para os efeitos principais: Grupos experimentais (eutocia vs. cesariana) e momentos de avaliação (0 vs. 30min vs. 60min vs.12h vs. 24h) e sua interação para a avaliação materna e neonatal. São Paulo – 2018.

Variáveis	Grupos	Momentos	Grupos X Momentos
Adrenalina materna	0,41	0,34	0,47
Noradrenalina materna	0,008	0,84	0,70
Cortisol materno	<0,0001	0,16	**0,02**
Adrenalina neonatal	0,10	0,45	0,51
Noradrenalina neonatal	0,61	0,58	0,53
Cortisol neonatal	0,68	<0,0001	**0,001**

Em relação às catecolaminas, houve diferença significativa entre os grupos para a noradrenalina materna, superior no grupo cesariana. Nos neonatos, não houve diferença entre os nascidos em eutocia e cesariana eletiva (figura 19).

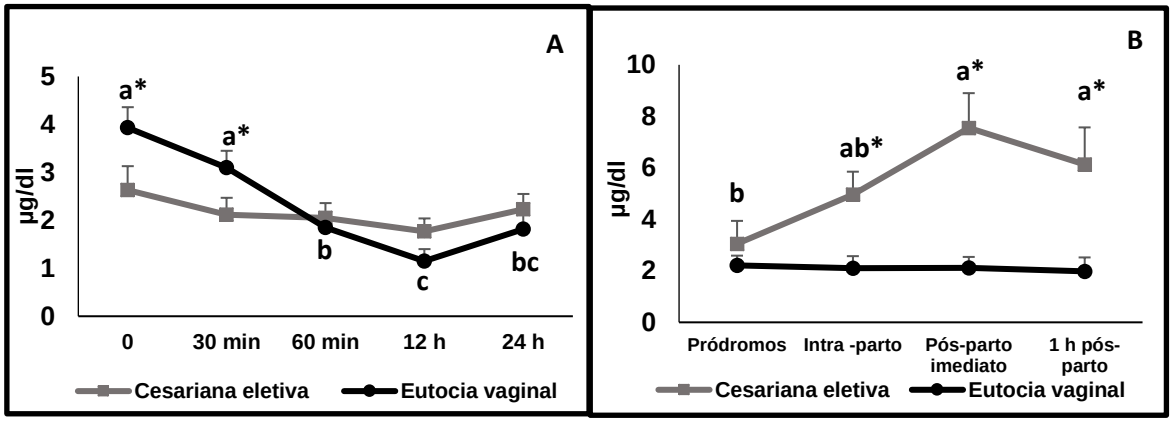
Figura 19. Representação gráfica da concentração sanguínea de adrenalina (µg/dl) (A) e noradrenalina (µg/dl) (B), materna e neonatal nos distintos grupos experimentais. São Paulo – 2018.



* diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05).

Nos filhotes nascidos em eutocia vaginal ao nascimento e 30 minutos, foi observada maior concentração sanguínea de cortisol em relação ao grupo cesariana, apesar da redução progressiva até 12 horas de vida (Figura 20A). Por outro lado, observamos maior concentração de cortisol nas fêmeas submetidas à cesariana mesmo após 1 h do procedimento cirúrgico (Figura 20B).

Figura 20. Representação gráfica da concentração de cortisol neonatal (µg/dl) (A) e cortisol materno (µg/dl) (B) nos distintos grupos experimentais ao longo dos momentos de avaliação. São Paulo – 2018.

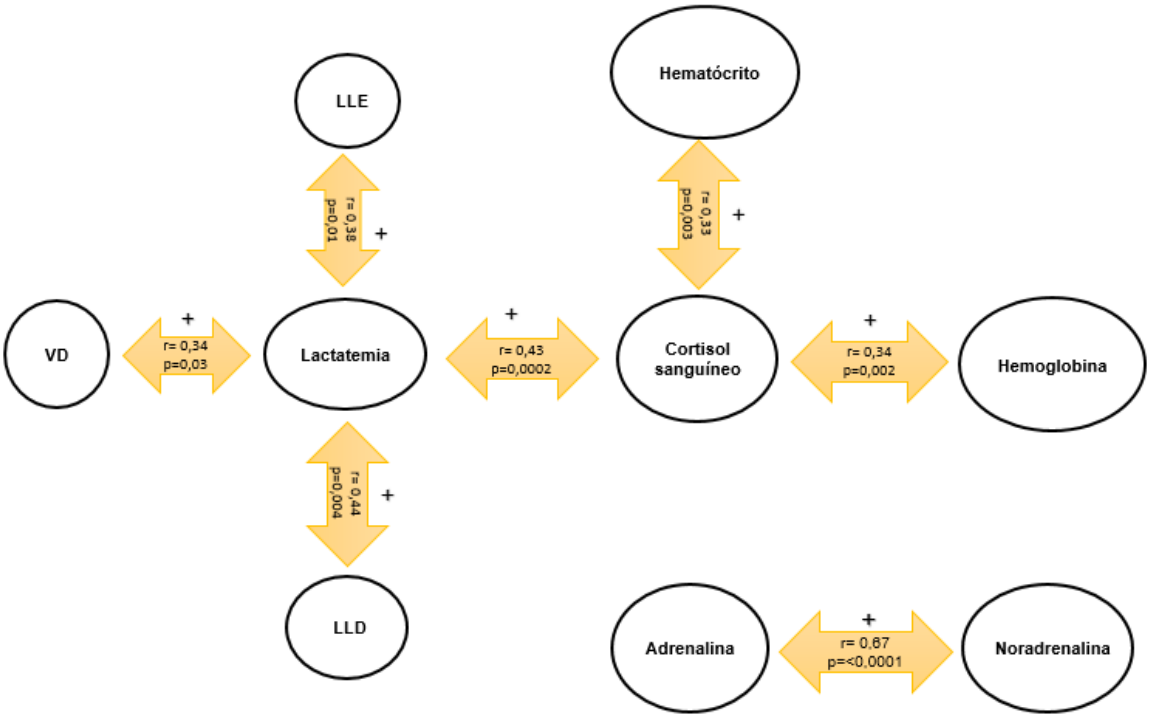


*diferença significativa entre os grupos experimentais (p<0,05) [a-c] diferença significativa entre os momentos de avaliação (p<0,05).

4.8 ANÁLISE DE CORRELAÇÃO

Nos neonatos nascidos em eutocia vaginal, a concentração de lactato sanguíneo correlacionou-se positivamente com a concentração de cortisol (r = 0,43; p = 0,0002) e com o escore de opacificação pulmonar (VD- r = 0,34; p = 0,03, LLE- r = 0,38; p= 0,01, LLD- r = 0,44; p = 0,004). A concentração sanguínea de cortisol correlacionou-se positivamente com a concentração de hemoglobina (r = 0,34; p = 0,002) e hematócrito (r = 0,33; p = 0,003). A concentração de adrenalina correlacionou-se positivamente com a noradrenalina (r = 0,67; p = <0,0001) (figura 21).

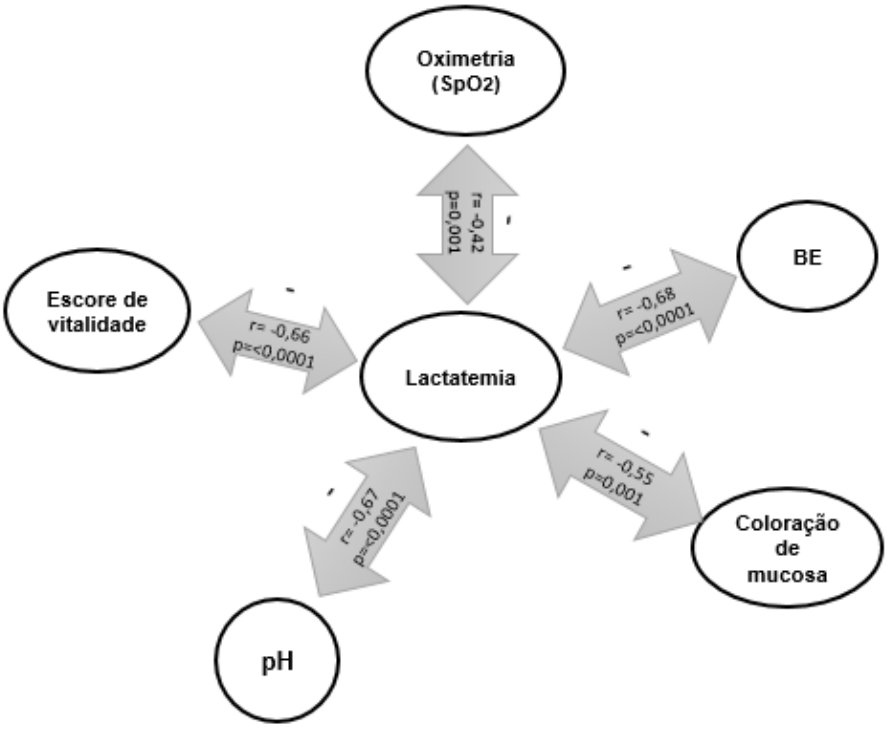
Figura 21. Diagrama gráfico das correlações estatísticas positivas nos neonatos do grupo eutocia vaginal. São Paulo, 2018.



LLE- latero-lateral esquerda; LLD- latero-lateral direita; VD: ventro-dorsal.

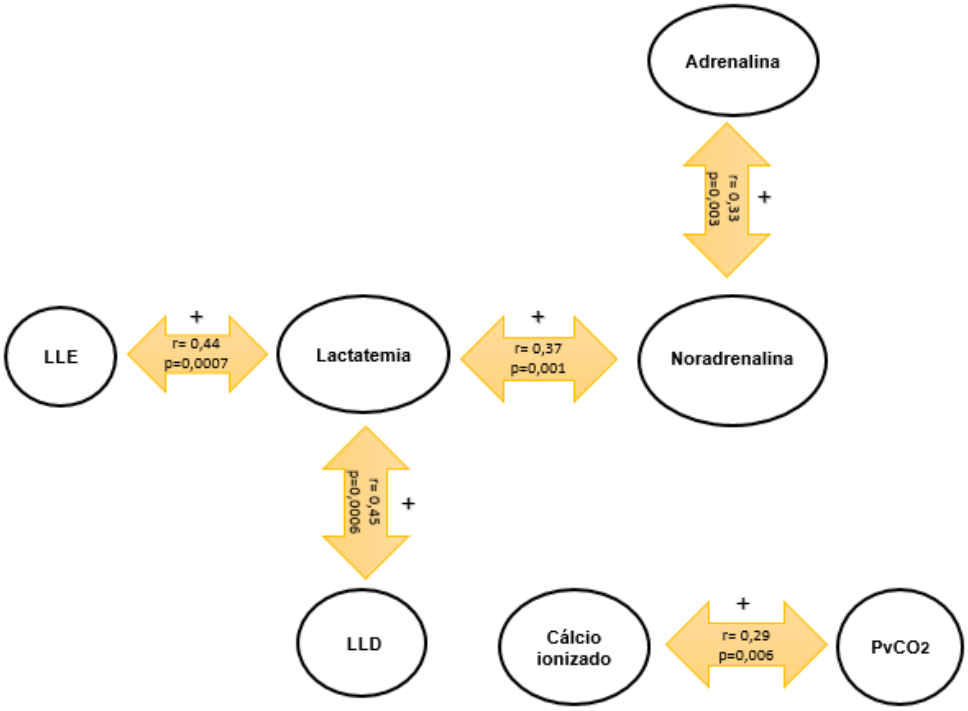
Nos filhotes nascidos em eutocia vaginal, a concentração de lactato sanguíneo correlacionou-se negativamente com o escore de vitalidade neonatal (r = -0,66; p=0,0001), pH sanguíneo (r = -0,67; p = <0,0001), escore de coloração de mucosa (r= -0,55; p = 0,001), BE (r = -0,68; p = <0,0001) e oximetria (SpO_2) (r = -0,42; p=0,0011) (figura 22).

Figura 22. Diagrama gráfico das correlações estatísticas negativas nos neonatos do grupo eutocia vaginal. São Paulo, 2018.



Nos neonatos do grupo cesariana eletiva, a concentração de lactato sanguíneo correlacionou-se positivamente com o escore de opacificação pulmonar (LLD- r = 0,45; p = 0,0006, LLE- r = 0,44; p = 0,0007) e concentração de noradrenalina (r=0,37; p = 0,001). Houve correlação positiva entre as concentrações de adrenalina e noradrenalina (r = 0,33; p = 0,003). A concentração sanguínea de cálcio ionizado correlacionou-se positivamente com a $PvCO_2$ (r = 0,29; p = 0,006) (figura 23).

Figura 23. Diagrama gráfico das correlações estatísticas positivas nos neonatos do grupo cesariana eletiva. São Paulo, 2018.



LLE- latero-lateral esquerda; LLD- latero-lateral direita; VD: ventro-dorsal.

Nos filhotes nascidos de cesariana, a concentração de noradrenalina correlacionou-se negativamente com o escore de vitalidade neonatal (r = -0,53; p = 0,002) e o escore de coloração de mucosa (r = -0,47; p = 0,008) (figura 24).

Figura 24. Diagrama gráfico das correlações estatísticas negativas nos neonatos do grupo cesariana eletiva. São Paulo, 2018.

Discussão

5 DISCUSSÂO

Com o rompimento do cordão umbilical, o feto perde sua ligação com a placenta, dependendo exclusivamente de seus pulmões para oxigenação. Portanto, o presente estudo, objetivou avaliar os diferentes fatores que determinam a remoção do fluido pulmonar no período de transição feto-neonatal em cães nascidos em eutocia vaginal ou cesariana eletiva.

A ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) fetal é responsável pela maturação final de vários órgãos, entre eles, o pulmão, além da resposta ao estresse e o desencadeamento do parto (VERONESI et al., 2015). Neste estudo, demonstramos, de forma inédita em Medicina Veterinária, resposta distinta ao estresse do parto nas parturientes e nos neonatos, de acordo com a condição obstétrica. Durante o parto, mudanças significativas ocorrem nos parâmetros fisiológicos por dor, ansiedade e contrações uterinas (SONG et al., 2004). Diferentemente do esperado, tais mudanças não foram suficientes para desencadear o aumento das concentrações de cortisol e catecolaminas séricas durante o período experimental nas parturientes do grupo eutocia vaginal. De acordo com Gram et al. (2016), em cadelas, ao contrário de outras espécies, o aumento da concentração de cortisol no sangue periférico não é mandatório para o início do parto. Contrariamente, Concannon et al. (1978) e Veronesi et al. (2002) encontraram maiores concentrações de cortisol no dia do parto, enquanto Olsson et al. (2003) verificaram concentrações basais de cortisol nos pródromos do parto, pico hormonal após o nascimento do primeiro filhote, seguido de retorno aos níveis basais. Em mulheres, a concentração de cortisol após o início do parto foi superior em primíparas em comparação às pluríparas (KONO et al., 1987). No presente estudo, 70% das fêmeas do grupo eutocia vaginal eram pluríparas, característica materna que pode ter contribuído para os resultados encontrados. Por outro lado, resultado distinto foi observado no grupo cesariana eletiva, pois o procedimento cirúrgico determinou aumento das concentrações séricas de cortisol, mesmo 1 h após o término da cirurgia. Ademais, observamos maior concentração de noradrenalina nas fêmeas submetidas à cesariana. Destaca-se que não foram observadas alterações cardiorrespiratórias e/ou hemodinâmicas importantes no transoperatório. De fato, o trauma cirúrgico inerente

ao procedimento de cesariana é reconhecidamente estressor (SCHNEIDER et al., 2015). A dor inflamatória leva à reação de estresse agudo, com ativação do sistema nervoso simpático e prejudica o fluxo sanguíneo placentário (REYNOLDS, 2010).

Já nos filhotes nascidos em eutocia vaginal, observamos perfil hormonal contrário às mães, ou seja, maior concentração de cortisol no líquido amniótico e no soro sanguíneo até os primeiros 30 minutos de vida, em comparação àqueles nascidos por cesariana. O parto em cadelas é um processo longo, mesmo nas melhores condições fisiológicas (GRUNDY, 2006). Desta forma, o feto é exposto por algumas horas a forças mecânicas e curtos períodos de hipóxia. Adicionalmente, com a passagem pelo canal do parto, ocorre a liberação dos hormônios do estresse que preparam o feto para a vida extrauterina (TRIBE et al., 2018). De fato, a resposta ao estresse fisiológico do parto vaginal resultou em maior vitalidade neonatal, com aumento da frequência cardíaca logo aos 5 minutos de vida, maior frequência respiratória e redução menos intensa da temperatura corpórea (> 32ºC) durante os primeiros 60 minutos em comparação ao grupo cesariana eletiva. Tais resultados corroboram estudos anteriores os quais mostraram que o nascimento por parto vaginal resulta em melhor vitalidade e adaptação neonatal inicial (SILVA et al., 2009; VASSALO et al., 2015).

A origem do cortisol no líquido amniótico em humanos é a urina fetal (DE FENCL; TULCHINSKY, 1975). Na espécie canina, Bolis et al. (2017) sugerem que o cortisol no líquido amniótico seja principalmente de origem fetal, porém, com possível contribuição materna. Em humanos, a concentração de cortisol no líquido amniótico apresenta correlação com a maturidade pulmonar fetal, representada pela maior relação lecitina/ esfingomielina (DE FENCL; TULCHINSKY, 1975). Em cães, Silva et al. (2015) correlacionaram a maior relação lecitina/ esfingomielina no líquido amniótico com melhor performance respiratória neonatal na primeira hora de vida. Por outro lado, no presente estudo, não houve correlação entre o cortisol no líquido amniótico e a concentração no soro sanguíneo dos filhotes ao nascimento, a despeito da maior concentração de cortisol em ambas amostras biológicas no grupo eutocia em comparação ao grupo cesariana. De maneira semelhante, Groppetti et al. (2015) encontraram maior concentração de cortisol no líquido amniótico em filhotes nascidos em eutocia vaginal em comparação à cesariana eletiva ou emergencial, indicando que a passagem pelo canal do parto resulta em maior estresse ao feto. Entretanto, o

estresse agudo da cesariana nas cadelas não influenciou as concentrações séricas de cortisol nos filhotes, visto que não houve modificações significativas durante o período de transição feto-neonatal. Em mulheres, o estresse agudo regula a ativação da enzima placentária 11ß-hidroxiesteróide desidrogenase 2 (11ß-HDS2), a qual converte o cortisol materno em cortisona (forma inativa) na placenta. Tal mecanismo é considerado uma medida protetora para o feto contra eventual elevação rápida de glicocorticoides maternos, enquanto a inibição da enzima no estresse crônico pode ser estratégia fetal de sobrevivência, já que é um fator de risco para o nascimento pré-termo (ZHU et al., 2018). Desta forma, podemos sugerir que a placenta canina, assim como em humanos, fornece uma barreira de proteção para a passagem de glicocorticoides da mãe para o feto no estresse agudo do parto cirúrgico.

Durante a cesariana, a anestesia epidural proporciona alívio da dor materna, bloqueando a ação do sistema nervoso simpático (IRESTEDT et al., 1984). No entanto, a utilização apenas da anestesia epidural na espécie canina não é comum, principalmente pela dificuldade de contenção da fêmea (RYAN; WAGNER, 2006). Sabe-se que a anestesia geral em comparação à epidural diminui a liberação de catecolaminas e a vitalidade neonatal, comprometendo a adaptação imediata (IRESTEDT et al., 1982). De fato, os neonatos caninos nascidos de cesariana apresentaram menor grau de vitalidade, menor escore de tônus muscular e irritabilidade reflexa, demonstrando depressão do sistema nervoso central. Observamos, ainda, hipotermia mais acentuada na primeira hora de vida, sugerindo que a ação dos agentes anestésicos, juntamente com a ausência do estresse agudo do parto (efeito termogênico do cortisol), comprometem a adaptação neonatal inicial. Além disto, a estabilização da frequência cardíaca ocorreu tardiamente, apenas às 4 horas de vida. Sabe-se que em situação de hipóxia, a noradrenalina é liberada pela medula adrenal e aumenta a resistência periférica total, resultando em vasoconstrição periférica (CUNNINGHAM, 2004). De fato, evidenciamos que a noradrenalina sérica correlacionou-se positivamente com o lactato sanguíneo, e negativamente com o escore de vitalidade e coloração de mucosa. No entanto, aos 60 minutos, houve adequada recuperação na vitalidade dos filhotes. Assim como encontrado por Vassalo et al. (2015), o nascimento cirúrgico exigiu maior tempo para adaptação à vida extrauterina, embora não tenham sido necessárias medidas reanimatórias mais intensas.

Em cadelas, diversos protocolos anestésicos foram testados quanto à segurança para a mãe e os filhotes (CONDE RUIZ et al., 2016; VILAR et al., 2018). Neste estudo, optamos por utilizar protocolo anestésico rotineiro para a cesariana em cadelas (LUNA et al., 2004), associado ao bloqueio epidural com lidocaína e morfina, as quais fornecem anestesia regional e relaxamento da musculatura abdominal e analgesia, respectivamente (RYAN; WAGNER, 2006). No entanto, este é o primeiro estudo que se propõe a avaliar o estresse transoperatório em cesarianas eletivas em cadelas. Nossos resultados divergem em grande parte daqueles demonstrados na Medicina, para os quais o parto vaginal resulta em maiores concentrações de cortisol e catecolaminas em mulheres e recém-nascidos em comparação à cesariana eletiva (LI et al., 1999; STJERNHOLM et al., 2016). No presente estudo, a cesariana eletiva demonstrou ser um fator estressor materno, com liberação de cortisol e noradrenalina sérica, diferentemente do parto vaginal. Desta forma, a escolha pelo procedimento cirúrgico em cadelas deve ser ponderada, levando em consideração a maior dificuldade adaptativa neonatal e o maior estresse materno.

Sabe-se que a elevação dos níveis de catecolaminas e glicocorticoides é capaz de estimular atividades metabólicas produtoras de energia e calor, tais como geração de ácidos graxos livres, por lipólise, como fonte importante de energia (ULRICH-LAI et al., 2009). Desta forma, a hipotermia nos neonatos nascidos em eutocia demonstrou ser menos severa (somente a partir dos 10 minutos de vida), atingindo a normotermia após 1 hora de vida. De acordo com Veronesi (2013), a hipotermia não severa (superior a 32°C) e transitória (40 – 60 minutos) apresenta função protetora ao neonato, diminuindo o metabolismo e preservando o tecido cerebral de eventuais danos decorrentes da hipóxia após o nascimento. Por outro lado, os filhotes nascidos por cesariana apresentaram hipotermia precocemente e de forma prolongada até 4 horas de vida, reforçando a necessidade de medidas preventivas e cuidados essenciais no período neonatal inicial quando o nascimento é cirúrgico.

De acordo com nossos resultados, não houve influência do tipo de parto na composição eletrolítica do líquido amniótico ao nascimento. Em ovinos, verificou-se que a composição do líquido amniótico durante o terço final da gestação decorre principalmente do fluido pulmonar fetal por meio dos movimentos respiratórios (BRACE et al., 1994). Após o início do trabalho de parto, principalmente pelo aumento de adrenalina, a taxa de secreção de fluido pulmonar fetal diminui rapidamente,

iniciando sua reabsorção através da entrada de Na^+ nos pneumócitos tipo II (PFISTER et al., 2001). Em estudo recente, Yilmaz Semerci et al (2018) verificaram que bebês prematuros apresentaram maiores concentrações de Na^+ no líquido amniótico em comparação a recém-nascidos a termo. Além disto, o aumento de Na^+ foi superior em recém-nascidos que apresentaram angústia respiratória ao nascimento, tais como a Síndrome do Desconforto Respiratório em prematuros e a Taquipneia Transitória do Recém-Nascido a termo (SEMERCI et al., 2018). Em nosso estudo, no entanto, não foi possível observar correlação entre os eletrólitos presentes no líquido amniótico ao nascimento com o desempenho respiratório inicial dos filhotes.

O início da respiração pulmonar nos neonatos ocorre por estímulos táteis, térmicos e moderada privação de oxigênio pelo mecanismo do parto (VESTWEBER, 1997). O principal estímulo para os nascidos de cesariana é o clampeamento do cordão umbilical e as massagens torácicas durante a estimulação. Desta forma, a expansão pulmonar inicia-se gradualmente e não permite equilíbrio imediato das trocas gasosas, resultando em diferentes graus de hipóxia neonatal ao nascimento (LUCIO et al., 2009; VERONESI, 2013). Em nosso estudo, verificamos que os filhotes apresentaram acidose sanguínea (pH < 7,34). Para os filhotes nascidos de cesariana, identificamos acidose do tipo respiratória com distúrbio metabólico durante a primeira hora de vida, associada à baixa perfusão tecidual de oxigênio (baixos valores de PvO_2 e SvO_2), com melhora apenas após 12 horas de vida. A adaptação à respiração pulmonar após o nascimento é importante fator na recuperação do desequilíbrio ácido-base. No entanto, evidenciamos menor frequência respiratória nos nascidos por cesariana em comparação ao grupo eutocia nos primeiros 50 minutos. Desta forma, podemos sugerir que a depressão respiratória foi a principal causa da menor oxigenação neonatal e, portanto, da acidose respiratória. Ademais, a hipoxemia foi mais severa no grupo cesariana, com saturação periférica de oxigênio crítica (< 90%; BACH, 2017), associada à baixa frequência cardíaca. Crissiuma et al. (2006) também encontraram acidose respiratória em filhotes nascidos por cesariana eletiva, com adequada recuperação aos 90 minutos. Similar aos nossos resultados, Lúcio et al. (2009) e Vassalo et al. (2015) verificaram que o período necessário para a correção do componente respiratório da acidose deve ser 1 hora em filhotes caninos nascidos de cesariana, em função da metabolização dos agentes anestésicos associada à reabsorção do fluido pulmonar.

Nos neonatos nascidos em eutocia vaginal, observamos acidose do tipo metabólica, com menores resultados de HCO_3^- e BE na primeira hora de vida, comparando-se ao grupo cesariana. Além disto, notamos discreta taquipneia (> 40 mpm) nos primeiros 10 minutos de vida e maior frequência cardíaca aos 5 e 10 minutos, o que acreditamos ser reflexo das restrições de trocas gasosas. A hipóxia fisiológica durante o parto resulta no metabolismo anaeróbico, com hipoperfusão tecidual e aumento do lactato sanguíneo (KOLISKI et al., 2005). De fato, ao nascimento, verificamos maior concentração de lactato sanguíneo nos filhotes no grupo eutocia vaginal, resultado semelhante ao observado por Kuttan et al. (2016). Por outro lado, Groppetti et al. (2010) e Castagnetti et al. (2017) não encontraram diferenças na lactatemia ao nascimento de acordo com o tipo de parto. Além disto, observamos diminuição da PvO_2 e SvO_2 durante os primeiros 30 minutos para os filhotes nascidos por parto vaginal. Tais resultados indicam que a alta demanda de oxigênio, necessária para suprir o súbito aumento do metabolismo neonatal, acarreta em período de hipóxia fisiológica além do momento do nascimento (LUCIO et al., 2009).

Evidenciamos, ademais, correlação positiva entre a concentração de lactato sanguíneo e cortisol sérico, denotando que a hipóxia tecidual resulta em estresse neonatal. Ainda, foram observadas correlações negativas entre a concentração de lactato sanguíneo e o escore de vitalidade neonatal, pH sanguíneo, BE, oximetria e o escore de coloração de mucosa nos filhotes nascidos em eutocia vaginal. De acordo com Bakker et al. (2007) e Vannucchi et al. (2012a), a combinação da hipóxia fisiológica durante o parto e os esforços iniciais para o preenchimento dos alvéolos com oxigênio resultam em anaerobiose, com hipoperfusão de tecidos periféricos e desenvolvimento de acidose láctica. Embora não tenha ocorrido diferença na análise radiográfica pulmonar entre os nascidos em eutocia e cesariana, houve correlação positiva entre o escore de opacificação pulmonar e a concentração de lactato sanguíneo em ambos os grupos. Disto demonstra que o conteúdo alveolar após o nascimento, decorrente da lenta absorção de líquidos pulmonares, pode ser a causa da hipóxia tecidual e, consequentemente, anaerobiose, independente da condição obstétrica. Entretanto, a lactatemia diminuiu progressivamente nos neonatos em eutocia vaginal, atingindo valores inferiores ao grupo cesariana às 24 horas. Tais resultados indicam recuperação da hipóxia e do equilíbrio ácido-base e melhor

resposta adaptativa às condições de hipóxia ao nascimento. Ademais, evidenciamos que a estabilização do quadro metabólico, com resultados de HCO_3 e BE dentro dos valores de referência, ocorreu às 12 horas nos filhotes nascidos em eutocia.

Em relação aos eletrólitos sanguíneos, evidenciamos elevação do cálcio ionizado nos nascidos de cesariana aos 60 minutos em comparação ao grupo eutocia vaginal. O cálcio ionizado é considerado a fração biologicamente ativa mais importante e sua concentração está relacionada ao pH e equilíbrio ácido-base. A diminuição do pH ocasiona aumento do cálcio ionizado, diminuindo sua capacidade de ligação a proteínas (albumina) e ânions complexos como bicarbonato, fosfato e citrato (WANDRUP, 1989). Neste estudo, observamos correlação positiva entre o cálcio ionizado e a $PvCO_2$ nos filhotes nascidos por cesariana, porém não verificamos correlação negativa com o pH sanguíneo. Além disto, encontramos resultados abaixo dos valores de referência em ambos os grupos. De acordo com Mitchell & Juppner (2010), em humanos, ocorre diminuição fisiológica do cálcio total e ionizado no primeiro dia de vida, com subsequente aumento no cálcio sérico por maturação da resposta ao paratormônio.

Em relação ao perfil hematológico, observamos menores concentrações de hemoglobina e hematócrito nos filhotes oriundos de parto vaginal. A hemoglobina possui ação tamponante na acidose, por meio da ligação de íons H^+ em substituição ao oxigênio. Consequentemente, a redução da concentração de hemoglobina acarreta em diminuição da perfusão de oxigênio. No entanto, houve correlação positiva entre a concentração de hemoglobina e hematócrito com a concentração de cortisol sérico no grupo eutocia vaginal. A resposta ao estresse resulta em aumento da contratilidade esplênica, visando aumentar o número de hemácias circulantes como medida protetora (PETERSON, 1998). Ademais, o hematócrito encontrava-se abaixo dos valores de referência nos neonatos nascidos em eutocia vaginal. Diferentemente da cesariana, a ruptura espontânea do cordão umbilical pode ter resultado em maior perda sanguínea. Além disto, o estado anêmico nesta fase é considerado adaptação fisiológica, em função do rápido desenvolvimento corpóreo e lenta produção de células sanguíneas (O'BRIEN et al., 2014). De fato, apenas os filhotes nascidos em eutocia ganharam peso no primeiro dia de vida, como consequência da melhor adaptação respiratória, cardiovascular e térmica na transição feto-neonatal. Ademais, todos os filhotes apresentaram-se normoglicêmicos e não houve correlação entre o

peso corpóreo e a glicemia. Por outro lado, os filhotes nascidos por cesariana apresentaram perda de peso, indicando maior demanda energética para manutenção térmica, metabolização de drogas e elevação do metabolismo corpóreo após a depressão farmacológica. Na Medicina, estudos demonstraram que o tipo de parto influencia na perda de peso do recém-nascido nos primeiros dias de vida. Similar com nosso resultado, Gallardo López et al. (2018) encontraram perda de peso de 4,4% em bebês nascidos de cesariana no primeiro dia de vida. Embora a perda de peso até 10% no primeiro dia de vida decorra de desidratação fisiológica (JOHNSTON; KUSTRITZ; OLSON, 2001), pode representar maior dificuldade adaptativa do neonato aos eventos fisiológicos logo após o nascimento.

Conclusão

6 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, concluímos:

1. O nascimento por cesariana eletiva altera a adaptação pulmonar, pois retarda a remoção do fluido pulmonar, resultando em trocas gasosas menos eficientes e menor oxigenação. Além disto, dificulta a resposta compensatória ao desequilíbrio ácido-básico no período de transição feto-neonatal.

2. A cesariana eletiva resulta em maior estresse materno durante e após o procedimento cirúrgico. Por outro lado, o parto vaginal eutócico resulta em condição fisiológica mais estressante para o neonato, contribuindo para melhor adaptação cardiorrespiratória e metabólica no período de transição feto-neonatal.

3. O tipo de parto não interfere na composição eletrolítica do líquido amniótico ou correlação com o desempenho respiratório inicial.

Referências

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMSON, T.M.; BOYD, R.D.H.; PLATT, H.S.; STRANG, L.B. Composition of alveolar liquid in the fetal lamb. **J Physiol**, v.204, n. 1, p.159-168, 1969.

ARALLA, M.; MOBASHERI, A.; GROPPETTI, D.; CREMONESI, F.; ARRIGHI, S.Expression of aquaporin water channels in canine fetal adnexa in respect to the regulation of amniotic fluid production and absorption. **Placenta**, v. 33, p. 502-510, 2012.

ARIKAN, G.M.; SCHOLZ, H.S.; HAEUSLER, M.C.; GIULIANI, A.; HAAS, J.; WEISS, P.A. Low fetal oxygen saturation at birth and acidosis. **Obstet Gynecol**, v. 95, n. 4, p. 565-571, 2000.

BACH, J. A quick reference on hypoxemia. **Vet Clin North Am: Small Anim Pract**, v. 47, n. 2, p. 175-179, 2017.

BAKKER, P.C.A.M.; KURVER ,P.H.J.; KUIK, D.J.; VAN GEIJN, H.P. Elevated uterine activity increases the risk of fetal acidosis at birth. **American J Obstet Gynecol,** v. 196, n .4, p. 313.e1–313.e6, 2007.

BEN HAMIDA NOUAILI, E.; BOUZIRI, A.; BEN MILED, A.; CHAOUACHI, S.; SFAR, R.; BEN JABALLAH, N. Neonatal respiratory morbidity after elective cesarean section at term. **Tunis Med**, v. 88, p.924-927, 2010.

BLAND, R.D.; McMILLAN, D.D.; BRESSACK, M.A.; DONG, L. Lung fluid balance in lambs before and after birth. **J Appl Physiol,** v.53, p.992-1004, 1982.

BLICKSTEIN, I.; GREEN, T. Umbilical cord blood gases. **Clin Perinatol**, v. 34, n. 3, p. 451-459, 2007.

BOLIS, B.; PRANDI, A.; ROTA, A.; FAUSTINI, M.; VERONESI, M.C.Cortisol fetal fluid concentrations in term pregnancy of small-sized purebred dogs and its preliminary relation to first 24 hours survival of newborns.**Theriogenology**, v.88, p. 264-269, 2017.

BONTE, T.; DEL CARRO, A.; PAQUETTE, J.; CHARLOT VALDIEU, A.; BUFF, S.; ROSSET, E. Foetal pulmonary maturity in dogs: estimated from bubble tests in amniotic fluid obtained via amniocentesis. Reprod Dom Anim, v. 52, p. 1025-1029, 2017.

BRACE, R.A.; WLODEK, M.E.; COCK, M.L.; HARDING, R. Swallowing of lung liquid and amniotic fluid by the ovine fetus under normoxic and hypoxic conditions. **Am J Obstet Gynecol**, v. 171, n. 3, p. 764-770, 1994.

BROWN, M.J.; OLVER, R.E.; RAMSDEN, C.A.; STRANG, L.B., WALTERS, D.V. Effects of adrenaline and of spontaneous labour on the secretion and absorption of lung liquid in the fetal lamb. **J Physiol**, v.344, p.137-152, 1983.

CARDOSO, W.V. Critical events in normal lung development and aging. Lung morphogenesis, role of growth factors and transcription factors. In. The lung development, aging and the enviroment. HARDING, R.; PINKERTON, K.E.; PLOPPER, C.G. Elsevier, Londres, 2004, p. 4-10.

CASTAGNETTI, C.; CUNTO, M.; BINI, C.; MARIELLA, J.; CAPOLONGO, S.; ZAMBELLI, D. Time-dependent changes and prognostic value of lactatemia during the first 24 h of life in brachycephalic newborn dogs. **Theriogenology**, v. 94, p. 100-104, 2017.

COHEN, M.; CARSON, B.S. Respiratory morbidity benefit of awaiting onset of labor after elective cesarean section. **Obstet Gynecol**, v. 65, p. 818-824, 1985.

CONCANNON, P.W.; BUTLER, W.R.; HANSEL, W.; KNIGHT, P.J.; HAMILTON, J.M. Parturition and lactation in the bitch: serum progesterone, cortisol and prolactin. **Biol Reprod**, v. 19, p. 1113–1118, 1978.

CONDE RUIZ, C.; DEL CARRO, A.P.; ROSSET, E.; GUYOT, E.; MAROILLER, L.; BUFF, S.; PORTIER, K. Alfaxalone for total intravenous anaesthesia in bitches undergoing elective caesarean section and its effects on puppies: a randomized clinical trial. **Vet Anaesth Analg**, v. 43, n. 3, p. 281-290, 2016.

CRISSIUMA, A. L.; LABARTHE, N.V.; JUPPA, C.J.; MANNARINO, R.; SOARES, A.M.B.; GERSHONY, L.C. Cardiorespiratory parameters and acid-basic changes in fetal-neonatal transition. **Rev Clin Vet**, v. 57, p. 36–40, 2005.

CRISSIUMA, A. L.; LABARTHE, N.V.; JUPPA, C.J.; MANNARINO, R.; SOARES, A.M.B.; GERSHONY, L.C. Analyzing blood gasometry at three time points of the fetal-neonatal transitional period of dogs born by elective cesarean parturition. **Intern J Appl Res Vet Med**, v.4, p. 15–22, 2006.

CUNNINGHAM, J.G. Controle neural e hormonal da pressão sanguínea e do volume sanguíneo. In. CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p.208-217.

DAVIDSON, A.P. Approaches to reducing neonatal mortality in dogs. Disponível em: **International Vet Info Service**, 2003. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/267937790_Approaches_to_Reducing_Neonatal_Mortality_in_Dogs_19-Mar-2003 . Acesso em: 10 de junho 2017.

DE FENCL, M.; TULCHINSKY, D. Total cortisol in amniotic fluid and fetal lung maturartion. **N Engl J Med**, v. 292, n.3, p. 133-136, 1975.

DE VITA, B.; CAMPOS, L.L.; LISTONI, A.J.; MARTIN, I.; TAKAHIRA, R.K.; CURCIO, B.R.; LANDIM-ALVARENGA, F.C.; PRESTES, N.C. Comparação da composição bioquímica do líquido amniótico equino colhido em diferentes estágios gestacionais e no momento do parto. **Pesq Vet Bras**, v.34, p.582-588, 2014.

ELBAY, A.; CELIK, U.; CELIK, B.; OZER, O.F.; KILIC, G.; AKKAN, J.C.; BAYRAKTAR, B.T.; KAYMAK, N.Z. Intraocular pressure in infants and its association with hormonal changes with vaginal birth versus cesarean section. **Int Ophthalmol**, v. 36, n.6, p. 855-860, 2016.

FEFEBAUM, R.; VAZ, F.A.C. Termorregulação do recém-nascido. In. VAZ, F.A.C.; MANISSADJIAN, A.; ZUGAIB, M. Assistência à gestante de alto risco e ao recém-nascido nas primeiras horas. São Paulo: Atheneu, 1993, p.149-152.

FOLKESSON, H.G.; MATTHAY, M.A. Alveolar epithelial ion and fluid transport: recent progress. **Am J Respir Cell Mol Biol**, v.35, p.10-19, 2006.

GALLARDO LÓPEZ, M.; GALLARDO CADENASSO, E.; GALLARDO CADENASSO, L. Weight decrease in full-term newborns in the first 48 hours post natal. **Ver Chil Pediatr**, v. 89, n. 3, p. 325-331, 2018.

GOYAL, N.; TAYLOR, A.R.; RIVERS, E.P. Relationship between central and peripheral venous oxygen saturation and lactate levels: a prospective study. **J Emerg Med**, v. 50, n. 6, p. 809-817, 2016.

GRAM, A.; TRACHSEL, A.; BOOS, A.; KOWALEWSKI, M.P. Elevated utero/ placental GR/NR3C1 is not required for the induction of parturition in the dog. **Reproduction**, v. 152, n. 4, p. 303-311, 2016.

GROPPETTI, D.; PECILE, A.; DEL CARRO, A. P.; COPLEY, K.; MINERO, M.; CREMONESI, F. Evaluation of newborn canine viability by means of umbilical vein lactate measurement, apgar score and uterine tocodynamometry. **Theriogenology**, v. 74, n. 7, p. 1187-1196, 2010.

GROPPETTI, D.; MARTINO, P.A.; RAVASIO, G.; BRONZO, V.; PECILE, A. Prognostic potencial of amniotic fluid analysis at birth on canine neonatal outcomes. **Vet J**, v. 206, n. 3, p. 423-425, 2015.

GRUNDY, S. A. Clinically Relevant Physiology of the Neonate. **Vet Clin Small Anim Pract**, v. 36, p. 443–459. 2006

GUILLAUMIN, J.; DIBARTOLA, S.P. A Quick Reference on Hypernatremia. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v. 47, n. 2, p. 209-212, 2017.

HARRIS, A.P.; SENDAK, M.J.; DONHAM, R.T. Changes in arterial oxygen saturation immeadiately after birth in the human neonate. **J Pediatr**, v.109, p.35-40, 1986.

HILLMAN, N.H.; KALLAPUR, S.G.; JOBE, A.H. Physiology of transition from intrauterine to extrauterine life. **Clin Perinatol**, v. 39, n. 4, p. 769-783, 2012.

HISLOP, A. A. Airway and blood vessel interaction during lung development. **J Anatomy**, v. 201, n. 4, p. 325-334, 2002.

HOOPER, S.B.; HARDING, R. Fetal lung liquid: a major determinant of the growth and functional development of the fetal lung. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 22, n. 4, p. 235-247, 1995.

HUMPHREYS, P.W.; NORMAND, I.C.S.; REYNOLDS, E.O.R.; STRANG, L.B. Pulmonary lymph flow and the uptake of liquid from the lungs of the lamb at the start of breathing. **J Physiol,** v.193, p.1-29, 1967.

INDREBO, A.; TRANGERUD C.; MOE L. Canine neonatal mortality in four large breeds. **Acta Vet Scand**, v. 49, n.1, S2, 2007.

IRESTEDT, L.; LAGERCRANTZ, H.; HJEMDAHL, P.; HAGNEVIK, K.; BELFRAGE, P. Fetal and maternal plasma catecholamine levels at elective cesarean section under general or epidural anesthesia versus vaginal delivery. **American J Obstet Gynecol**, v. 142, p. 1004–1010, 1982.

IRESTEDT, L.; LAGERCRANTZ, H.; BELFRAGE, P. Causes and consequences of maternal and fetal sympathoadrenal activation during parturition. **Acta Obstet Gynecol Scand**, v. 118, p. 111-115, 1984.

JAIN, L.; EATON, D.C. Physiology of feta lung fluid clearance and the effect of labor. **Semin Perinatol**, v.30, p.34-43, 2006.

JAIN, L. Respiratory morbidity in late-preterm infants: prevention is better than cure! **American J Perinatol**, v.25, n.2, p.75-8, 2008.

JANÉR, C.; PITKÄNEN, O.M.; SÜVARI, L.; TURPEINEN, U.; PALOJÄRVI, A.; ANDERSSON, S.; HELVE, O. Duration of gestation and mode of delivery affect the genes of transepithelial sodium transport in pulmonary adaptation. **Neonatology**, v. 107, n. 1, p. 27-33, 2015.

JOHNSTON, S. D.; KUSTRITZ, M. V. R.; OLSON, P. N. S. The neonate from-birth to weaning.In: JOHNSTON, S. D. **Canine and feline theriogenology.** Philadelphia: W. B. Saunders, 2001, p. 146-157.

JOSHI, S.; KOTECHA, S. Lung growth and development. **Early Hum Dev**, v. 83, n. 12, p. 789-794, 2007.

KALACHE, K.D.; CHAOUI, R.; MARKS, B.; WAUER, R.; BOLLMANN, R. Does fetal tracheal fluid flow during fetal breathing movements change before the onset of labour? **BJOG**, v. 109, n. 5, p. 514-519, 2002.

KESZLER. M.; CARBONE, M.T.; COX, C.; SCHUMACHER, R.E. Severe respiratory failure after elective repeat cesarean delivery: a potentially preventable condition leading to extracorporeal membrane oxygenation. **Pediat,** v.89, p.670-672, 1992.

KOGIKA, M.M.; DE MORAIS, H.A. A Quick Reference on Hypokalemia. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v. 47, n. 2, p. 229-234, 2017.

KOLISKI, A.; CAT, I.; GIRALDI, D.J.; CAT, M.L. Blood lactate concentration as prognostic marker in critically ill children. **J Pediatr**, v. 81, n. 4, 2005.

KONO, H.; FURUHASHI, N.; SHINKAWA, O.; TAKAHASHI, T.; TSUJIEI M.; YAJIMA, A. The maternal serum cortisol levels after onset of labor. **Thoku J Exp Med**, v. 152, n. 2, p. 133-137, 1987.

LI, W.; WEIYUAN, Z.; YANHUI, Z. The study of maternal and fetal plasma catecholamines levels during pregnancy and delivery. **J Perinat Med,** v. 27, p. 195-198, 1999.

LUCIO, C.F.; SILVA, L.C.; RODRIGUES, J.A.; VEIGA, G.A.; VANNUCCHI, C.I. Acid-base changes in canine neonates following normal birth or dystocia. **Reprod Domest Anim**, p.44, n.2, p. 208-210, 2009.

LUNA, S.P.L.; CASSU, R.N.; CASTRO, G.B.; TEIXEIRA NETO, F.J.; SILVA JUNIOR, J.R. Effects of four anaesthetic protocols on the neurological and cardiorespiratory variables of puppys born by cesarean section. **Vet Record**, v. 154, p.387-389, 2004.

MAHONEY, A.D.; JAIN, L. Respiratory disorders in moderately preterm, late preterm, and early term infants. **Clin Perinatol**, v. 40, p. 665-678, 2013.

MARTIN, P.A.; CRUMP, M.H. The adrenal gland. In: PINEDA, M.H.; DOOLEY, M.P. **McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction**. 5. Ed. Iowa: Iowa State Press, 2003, p.165-2003.

MATTHAY, M.A.; CLERICI, C.; SAUMON, G. Invited review: Active fluid clearance from the distal air spaces of the lung. **J Appl Physiol**, v. 93, p.1533-1541, 2002.

McCRAY, P.B. Jr; BETTENCOURT, J.D.; BASTACKY, J. Developing bronchopulmonary epithelium of the human fetus secrets fluid. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol,** v.262, p.270-279, 1992.

MILA, H.; GRELLET, A.; FEUGIER, A.; CHASTANT-MAILLARD, S. Differential impact of birth weight and early growth on neonatal mortality in puppies. **J Anim Sci**, v.93, p.4436-4442, 2015.

MITCHELL, D.M.; JUPPNER, H. Regulation of calcium homeostasis and bone metabolism in the fetus and neonate. **Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes**, v. 17, p. 25-30, 2010.

MIYOSHI, M.H.; GUINSBURG, R. Desenvolvimento e Crescimento Pulmonar Perinatal. In: KPELMAN, B.; MIYOSHI, M.H.; GUINSBURG, R. **Distúrbios respiratórios no período neonatal**. São Paulo: ed. Atheneu, 1998, p.03-14.

MOON, P.F.; ERB, H.N.; LUDDERS, J.W.; GLEED, R.D.; PASCOE, P.J. Perioperative risk factors for puppies delivered by cesarean section in the United States and Canada. **J Am Anim Hosp Assoc**, v.36, p.259-368, 2000.

MOON, P.F.; MASSAT, B.J.; PASCOE, P.J. Neonatal Critical Care. **Vet Clinics of North American: Small Animal Practice**, v.31, n.2, p.343-366, 2001.

NEWNHAM, J.P.; MARSHALL, C.L.; PADBURY, J.F.; LAM, R.W.; HOBEL, C.J.; FISHER, D.A. Fetal catecholamine release with preterm delivery**. Am J Obstet Gynecol**, v. 149, n. 8, p. 888-893, 1984.

O'BRIEN, M.A.; McMICHAEL, M.A.; BOEDEC, K.L.; LEES, G. Reference intervals and age-related changes for venous biochemical, hematological, electrolytic, and

blood gas variables using a point of care analyzer in 68 puppies. **J Vet Emerg Crit Care**, v. 24, n. 3, p. 291-301, 2014.

O'BRODOVICH, H.M. Immature epithelial Na+ channel expression is one of the pathogenetic mechanisms leading to human neonatal respiratory distress syndrome. **Proc Assoc Am Physicians**, v. 108, p. 345-355, 1996.

OLSSON, K.; BERGSTROM, A.; KINDAHL, H.; LAGERSTEDT, A.S. Increased plasma concentrations of vasopressina, oxytocin, cortisol and the prostaglandina F2alpha metabolite during labour in the dog. **Acta Physiol Scand**, v. 179, n. 3, p. 281-287, 2003.

OLVER, R.E.; STRANG, L.B. Ion fluxes across the pulmonary epithelium and the secretion of lung liquid in the foetal lamb. **J Physiol**, v. 241, n.2, p. 327-357, 1974.

OLVER, R.E.; SCHNEEBERGER, E.E.; WALTERS, D.V. Ephitelial solute permeability ion transport and tight junction morphology in the developing lung of the fetal lamb. **J Physiol**, v.315, p.395-412, 1981.

OLVER, R.E.; WALTERS, D.V.; WILSON, S. M. Developmental regulation of lung liquid transport. **Annu Rev Physiol**, v.66, p.77-101, 2004.

OMAYGENC, D.O.; DOGU, T.; OMAYGENC, M.O.; OZMEN, F.; ALBAYRAK, M.D.; GULER, G. B.; GUR, E.,K.; OZENC, E. Type of anestesia affects neonatal wellbeing and frequency of transiente tachypnea in elective cesarean sections. **J Matern Fetal Neonatal Med**, v. 28, n. 5, p. 568-572, 2015.

PALME-KILANDER, C.; TUNELL, R.; CHIWEL, Y. Pulmonary gas exchange immediately after birth in spontaneously breathing infants. **Arch Dis Child**, v.68, p.6-10, 1993.

PETERSON, M. E. Distúrbios endócrinos e metabólicos. In: BICHARDS, S. S., SHERDING R. G. **Clínica de Pequenos Animais.** São Paulo: Ed. Roca, 1998.

PFISTER, R.E.; RAMDSEN, C.A.; NEIL, H.L.; KYRIAKIDES, M.A.; BERGER, P.J. Volume and secretion rate of lung liquid in the final days of gestation and labour in the fetal sheep. **J Physiol**, v.535, p.889-899, 2001.

PHILLIPPE, M. Fetal catecholamines. **American J Obstet Gynecol**, v. 146, p. 840–855, 1983.

RAMACHANDRAPPA, A.; JAIN, L. Elective cesarean section: its impact on neonatal respiratory outcome. **Clin Perinatol**, v. 35, p.373-393, 2008.

REYNOLDS, F. The effects of maternal labour analgesia on the fetus. **Best Pract Res Clin Obstet Gynecol**, v. 24, p. 289–302, 2010.

ROBERTSON, A.S. Simple acid-base disorders. **Vet Clin North Am: Small Anim Pract**, v. 19, n.2, p. 289-306, 1989.

RYAN, S.; WAGNER, A. Cesarean section in dogs: Physiology and Perioperative considerations. **Compendium Contin Educ Pract Vet,** *v.* 28, p. 34-42, 2006.

SCHNEIDER, M.; KUCHTA, A.; DRON, F.; WOEHRLÉ, F. Disposition of cimicoxib in plasma and milk of whelping bitches and in their puppies. **BMC Vet Res**., v. 11, p. 178, 2015.

SILVA, L. C. G.; LÚCIO, C. F.; VEIGA, G. A. L.; RODRIGUES, J. A.; VANNUCCHI, C. I. Avaliação clínica neonatal por escore Apgar e temperatura corpórea em diferentes condições obstétricas na espécie canina. **Rev Port Ciên Vet**, v. 103, p. 165–170. 2008.

SILVA, L.C.G.; LUCIO, G.A.L.; VEIGA, J.A.; RODRIGUES, J.A.; VANNUCCHI, C.I. Neonatal clinical evaluation, blood gás and radiographic assessment after normal birth, vaginal dystocia or cesarean section in dogs. **Reprod Dom Anim**, v. 44, p.160-163, 2009.

SILVA, L.G.; PORTARI, G.V.; LUCIO, C.F.; RODRIGUES, J.A.; VEIGA, G.L.; VANNUCCHI, C.I. The influence of the obstetrical condition on canine neonatal pulmonary functional competence. **J Vet Emerg Crit Care**, v. 25, p. 725-730, 2015.

SIPRIANI, T.M.; GRANDI, F.; DA SILVA, L.C.; MAIORKA, P.C.; VANNUCCHI, C.I.Pulmonary maturation in canine foetus from early pregnancy to parturition. **Reprod Domest Anim,** v.44, n. 2, p. 137-140, 2009.

SIRISTATIDIS, C.; SALAMALEKIS, E.; KASSANOS, D.; LOGHIS, C.; CREATSAS, G. Evaluation of fetal intrapartum hypoxia by middle cerebral and umbilical artery Doppler velocimetry with simultaneous cardiotocography and pulse oximetry. **Arch Gynecol Obstet**, v. 270, n. 4, p. 265-270, 2004.

SMITH,F.O. Challenges in small animal parturition – Timing elective and emergency cesarian sections. **Theriogenology**, v.68, p.348-353, 2007.

SONG, J.; ZHANG, S.; QIAO, Y.; LUO, Z.; ZHANG, J.; ZENG, Y.; WANG, L. Predicting pregnancy-induced hypertension with dynamic hemodynamics. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, v.117, p.162–168, 2004.

STJERNHOLM, Y.V.; NYBERG, A.; CARDELL, M.; HÖYBYE, C. Circulating maternal cortisol levels during vaginal delivery and elective cesarean section. **Arch Gynecol Obstet**, v. 294, n. 2, p. 267-271, 2016.

STOCKX, E.M.; PFISTER, R.E.; KYRIAKIDES, M.A.; BRODECKY, V.; BERGER, P.J. Expulsion of liquid from the fetal lung during labour in sheep. **Respir Physiol Neurobiol**, v.157, p.403-410, 2007.

STRANGE, G.A. **The Pediatric Emergency Medicine**. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2001.

TONIOLLO, G.H.; VICENTE, W.R.R. **Manual de obstetrícia veterinária**. São Paulo: Varela, 1993.

TONNESSEN, R.; BORGE, K.S.; NODTVEDT, A.; INDREBO, A. Canine perinatal mortality: a cohort study of 224 breeds. **Theriogenology**, v. 77, p. 1788-17801, 2012.

TRAAS, A.M. Surgical management of canine and feline dystocia. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 337-342, 2008.

TRIBE, R.M.; TAYLOR, P.D.; KELLY, N.M.; REES, D.; SANDALL, J.; KENNEDY, H.P. Parturition and the perinatal period: can mode of delivery impacto n the future health of the neonate? **J Physiol**, 2018. Pre-print. Disponível em: https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1113/JP275429. Acesso em: 02 de setembro 2018.

ULRICH-LAI, Y.M.; HERMAN, J.P. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. **Nat Rev Neurosci**, v. 10, n. 6, p. 397-409, 2009.

UNDERWOOD, M.A.; GILBERT, W.M.; SHERMAN, M.P. Amniotic fluid: not just fetal urine anymore. J Perinatol, v. 25, n. 5, p. 341-348, 2005.

VANNUCCHI, C.I.; SILVA, L.C.G.; LÚCIO, C.F.; REGAZZI, F.M.; VEIGA, G.A.L.; ANGRIMANI, D.S. Prenatal and neonatal adaptations with a focus on the respiratory system. **Reprod Dom Anim,** v.47, p.177-181, 2012a.

VANNUCCHI, C.I.; REGAZZI, F.M.; BARBOSA, M.M.M; SILVA,L.C.G.; VEIGA, G.A.L.; LÚCIO, C.F.; ANGRIMANI, D.S.R.; NICHI, M.; FURTADO, P.V.; OLIVEIRA, C.A. Cortisol Profile and Clinical Evaluation of Canine Neonates Exposed Antenatally to Maternal Corticosteroid Treatment. **Reprod Dom Anim**, v. 47, n. 6, p. 173-176, 2012b.

VASSALO, F.G.; SIMÕES, C.R.B.; SUDANO, M.J.; PRESTES, N.C.; LOPES, M.D.; CHIACCHIO, S.B.; LOURENÇO, M.L.G. Topics in the routine assessment of newborn puppy viability. **Top Companion Anim Med**, v.30, p.16-21, 2015.

VERONESI, M.C.; BATTOCCHIO, M.; MARINELLI, L.; FAUSTINI, M.; KINDAHL, H.; CAIROLI, F. Correlations among body temperature, plasma progesterone, cortisol and PGF2α of the periparturient bitch. **J Vet Med A**, v.49, p. 264–268, 2002.

VERONESI, M. C.; PANZANI, S.; FAUSTINI, M.; ROTA, A. An apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. **Theriogenelogy**, v. 72, n., p. 401-407, 2009.

VERONESI, M.C. Cenni di fisiologia neonatale. In. VERONESI, M.C.; CASTAGNETTI, C.; TAVERNE, M.C.M. **Neonatologia veterinaria**, 2013, p. 11-30.

VERONESI, M.C.; COMIN, A.; MELONI, T.; FAUSTINI, M.; ROTA, A.; PRANDI, A. Coat and claws as new matrices for noninvasive long-term cortisol assessment in dogs from birth up to 30 days of age. **Theriogenology**, v. 84, p. 791-796, 2015.

VERONESI, M.C.; BOLIS, B.; FAUSTINI, M.; ROTA, A.; MOLLO, A. Biochemical composition of fetal fluids in at term, normal developed, healthy, viable dogs and preliminary data from pathologic littermates. **Theriogenology**, v. 108, p. 277-283, 2018.

VESTWEBER JG. Respiratory problems of newborn calves. **Vet Clin North Am Food Anim** Pract, v.13, p.411-424, 1997.

VILAR, J.M.; BATISTA, M.; PÉREZ, R.; ZAGORSKAIA, A.; JOUANISSON, E.; DÍAZ-BERTRANA, L.; ROSALES, S. Comparison of 3 anesthetic protocols for the elective cesarean-section in the dog: Effects on the bitch and the newborn puppies. **Anim Reprod Sci,** v. 190, p. 53-62, 2018.

VOGL, S.E.; WORDA, C.; EGARTER, C.; BIEGLMAYER, C.; SZEKERES, T.; HUBER, J.; HUSSLEIN, P. Mode of delivery is associated with maternal and fetal endocrine stress response. **BJOG**, v. 113, n. 4, p. 441-445, 2006.

WANDRUP, J. Critical analytical and clinical aspects of ionized calcium in neonates. **Clin Chem**, v. 35, n.10, p.2027-2033, 1989.

WARE, L.B.; MATTHAY, M.A. Alveolar fluid clearance is impaired in the majority of patients with acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. **Am J Respir Crit Care Med,** v. 163, p.1376-1383, 2001.

YILMAZ SEMERCI, S.; YÜCEL, B.; ERBAS, I.M.; GUNKAYA, O.S.; TALMAC, M.; ÇETINKAYA, M. The utility of amniotic fluid pH and electrolytes for prediction of neonatal respiratory disorders. **J Matern Fetal Neonatal Med,** v. 22, p. 1-5, 2018.

ZHU, P.; WANG, W.; ZUO, R.; SUN, K. Mechanisms for establishment of the placental glucocorticoid barrier, a guard for life. **Cell Mol Life Sci**, 2018. Pre-print. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00018-018-2918-5. Acesso em: 10 de outubro 2018.