

Gisele Almeida Lima da Veiga

**CARACTERIZAÇÃO DAS ALTERAÇÕES
HEMODINÂMICAS DO ÚTERO EM CADELAS COM
HIPERPLASIA ENDOMETRIAL CÍSTICA-PIOMETRA**

São Paulo

2012

GISELE ALMEIDA LIMA DA VEIGA

**Caracterização das alterações hemodinâmicas do útero em
cadelas com hiperplasia endometrial cística-piometra**

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 Infantsi Vannucchi

São Paulo

2012

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.2603
FMVZ

Veiga, Gisele Almeida Lima da
Caracterização das alterações hemodinâmicas do útero em cadelas com
hiperplasia endometrial cística-piometra / Gisele Almeida Lima da Veiga. --
2012.
97 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo,
2012.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.
Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Profa. Dra. Camila Infantsi Vannucchi.

1. Mucometra. 2. Endometrite. 3. Piometra. 4. Doppler. 5. Diagnóstico.
6. Cadelas. I. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Caracterização das alterações hemodinâmicas do útero em cadelas com hiperplasia endometrial cística-piometra", protocolado sob o nº 2298/2011, utilizando 35 (trinta e cinco) cães, sob a responsabilidade do(a) Profa. Dra. Camila Infantosi Vannucchi, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 17/8/2011.

We certify that the Research "Characterization of the haemodynamic changes of the uterus in bitches with cystic endometrial hyperplasia-pyometra", protocol number 2298/2011, utilizing 35 (thirty-five) dogs, under the responsibility Profa. Dra. Camila Infantosi Vannucchi, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 8/17/2011.

São Paulo, 30 de agosto de 2011.

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: VEIGA, Gisele Almeida Lima da

Título: **Caracterização das alterações hemodinâmicas do útero em cadelas com hiperplasia endometrial cística-piometra**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a 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: _____

Aos meus pais sempre...

AGRADECIMENTOS

Eis que chegou o momento tão esperado, momento de refletir sobre os anos dedicados à tão sonhada Tese de Doutorado, momento de dar mais um passo adiante. Posso dizer que foram, talvez, os anos mais conturbados em que vivi e poucas pessoas, mas especiais, foram as que realmente acompanharam de perto todas as turbulências. O início do doutorado foi uma fase extremamente difícil e com algumas perdas, mas...como tudo na vida, até as grandes quedas nos proporcionam grandes saltos e grandes vitórias! Os obstáculos? Hoje são insignificantes! As mudanças foram imensas, mas para melhor sempre. Por essa razão gostaria de deixar aqui o meu MUITO OBRIGADA à todos que de alguma forma contribuíram e acreditaram nesse trabalho.

Aos meus pais, minhas irmãs e minha sobrinha querida. Vocês são o que realmente me impulsiona a fazer sempre o melhor. Obrigada pelo apoio, pela torcida, pelo carinho e pelo amor absoluto.

À minha orientadora **Prof. Dra. Camila Infantsi Vannucchi**, mais uma vez obrigada por acreditar! Muitos foram os ensinamentos durante todos esses anos, mas o maior deles, sem dúvida, e que também vou passar aos meus alunos é que na pesquisa, devemos sempre acreditar no impossível e que nada está perdido,. Mestre (dos magos) você me mostrou que independente do momento e das circunstâncias, podemos sempre começar ou simplesmente recomeçar! O importante é arriscar! E o resultado, está aí...

À **Profa. Dra. Eneiva Carla Celeghini**, pelo aparelho de ultrassom. Sem sua humildade e bondade esses resultados não existiriam.

À **Caroline Rodrigues** e **Daniel Angrimani**, amigos para toda e QUALQUER HORA. Vocês, meus queridos, fazem parte desta conquista. Obrigada pelo otimismo, pelo companheirismo e pela ajuda incondicional.

À M.V. **Brenda Navarro**, que teve o dom de me ensinar a manipular e entender o Doppler.

Aos médicos veterinários, estagiários e amigos que contribuíram de maneira preciosa para a obtenção e processamento das amostras, **Priscila Marques, Fernanda Perez, Daniela Parola, Andréa Fonseca, Juliana Monteiro, Elaine Maceira, Raquel Fukumori, Fabrizio Grandi, Bruno Rui, Mariana, Ricardinho e a toda equipe do CPNA.**

À **Profa. Dra. Paula de Carvalho Papa**, que mais uma vez me acolheu em seu laboratório no Departamento de Anatomia da FMVZ/USP.

Ao **Dr. Marcílio Nichi**, que sempre me “salva” com as análises estatísticas.

Às minhas companheiras de pós-graduação: **Liege Garcia, Cristina Lúcio e Fernanda Regazzi**. Com vocês aprendi que não importa as diferenças, de alguma forma nós nos completamos, e isso sim faz toda a diferença! Obrigada por tudo...

À **Profa. Dra. Cláudia Barbosa**, que durante uma das fases críticas do doutorado me acolheu de maneira fraternal em sua disciplina. Foi nesse momento que tive o primeiro contato com o Doppler e me apaixonei!

Ao **Prof. Dr. Marcelo Alcindo** pelas sábias palavras...

Em especial aos **docentes, pós-graduandos e funcionários do VRA**, que durante todos esses anos me acolheram como outro lugar jamais me acolheria. Compartilho esta vitória com todos vocês!

***“Só quem se arrisca a ir longe demais descobre o
quão longe se pode ir.”***

T.S. Elliot

RESUMO

VEIGA, G. A. L. **Caracterização das alterações hemodinâmicas do útero em cadelas com hiperplasia endometrial cística-piometra.** [Uterine blood flow in bitches with Cystic Endometrial Hyperplasia-Pyometra]. 2012. 97f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

O diagnóstico presuntivo da Hiperplasia Endometrial Cística (HEC)-Piometra é comumente realizado por meio da avaliação ultrasonográfica bidimensional. Entretanto, o diagnóstico diferencial das afecções que constituem o complexo HEC-Piometra (HEC-mucometra, endometrite e piometra) é confirmado por meio dos achados ultrasonográficos, avaliação clínica, avaliação macroscópica e histológica do útero. Com o objetivo de instituir um meio de diagnóstico precoce e não invasivo, o presente estudo caracterizou a dinâmica vascular uterina por ultrasonografia Doppler em cadelas com HEC-Piometra. O total de 28 cadelas foram alocadas em 4 grupos, de acordo com a sintomatologia clínica, avaliação ultrasonográfica e histológica uterina: Grupo Controle (n=6); Grupo HEC-mucometra (n=10); Grupo Endometrite-Piometra (n=12). O Doppler colorido foi utilizado para o mapeamento dos vasos e o Doppler espectral, para caracterização da forma da onda. Os parâmetros de velocidade do fluxo sanguíneo e os índices hemodinâmicos foram calculados automaticamente. A avaliação quantitativa da vascularização uterina apresentou variação entre os grupos, sendo: Grupo Controle – mínimo 1 e máximo 1; Grupo HEC-mucometra – mínimo 1 e máximo 2; Grupo Endometrite-Piometra - mínimo 2 e máximo 4. Observou-se que nos grupos Controle (PS – $47,30 \pm 2,63$; ED – $1,29 \pm 0,54$; TAMAX – $8,47 \pm 1,13$) e HEC-mucometra (PS – $60,80 \pm 4,50$; ED – $9,76 \pm 0,77$; TAMAX – $20,47 \pm 0,12$) as velocidades do fluxo sanguíneo foram menores que no Grupo Endometrite-Piometra (PS – $86,72 \pm 6,35$; ED – $33,34 \pm 3,02$; TAMAX – $48,34 \pm 4,14$). Em relação aos índices hemodinâmicos, os grupos Controle (RI – $0,97 \pm 0,01$; PI – $6,45 \pm 0,60$; S/D – $78,83 \pm 9,82$) e HEC-mucometra (RI – $0,84 \pm 0,008$; PI – $2,59 \pm 0,12$; S/D – $6,73 \pm 0,36$) os índices foram superiores em relação ao Grupo Endometrite-Piometra (RI – $0,62 \pm 0,02$; PI – $1,22 \pm 0,09$; S/D – $2,86 \pm 0,17$), sendo caracterizado um fluxo sanguíneo contínuo. Pode-se inferir que as alterações do diâmetro uterino e, principalmente, a presença de processo inflamatório culminam com fluxo de baixa resistência e pulsatilidade. A análise

comparativa entre os Grupos HEC-Mucometra e Endometrite-Piometra permite sugerir que quanto maior a severidade da afecção uterina, maiores os índices de velocidade de fluxo sanguíneo, uma vez que tal característica pode contribuir para a eliminação do agente. Para os quadros clínicos nos quais a ausência de sintomatologia clínica e as alterações encontradas na avaliação ultra-sonográfica bidimensional não permitem o diagnóstico diferencial, os índices de RI, PI e S/D podem ser conclusivos. Conclui-se que na Endometrite-Piometra, a velocidade do fluxo sanguíneo e os índices hemodinâmicos da artéria uterina são fundamentais nos mecanismos compensatórios do organismo frente à ação do agente infeccioso; foi determinado a velocidade do fluxo sanguíneo e os índices hemodinâmicos da artéria uterina na HEC-Piometra; o escore de vascularização endometrial, bem como a forma da onda difere em fêmeas com e sem afecção uterina; a ultrasonografia Doppler é uma ferramenta diagnóstica, não invasiva, de alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico diferencial entre HEC-Mucometra e Endometrite-Piometra na espécie canina.

Palavras-chave: Mucometra, Endometrite, Piometra, Diagnóstico, Doppler, Cadelas.

VEIGA, G. A. L. **Uterine blood flow in bitches with Cystic Endometrial Hyperplasia-Pyometra.** [Caracterização das alterações hemodinâmicas do útero em cadelas com hiperplasia endometrial cística-piometra]. 2012. 97f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

The presumptive diagnosis of Cystic Endometrial Hyperplasia (CEH)-Pyometra Complex is ultimately determined through two-dimensional ultrasound examination. However, the differential diagnosis between CEH-mucometra, endometritis and pyometra is achieved by the combined analysis of ultrasonographic findings, clinical signs, uterine macroscopic and histological evaluation. In order to establish an accurate, precocious and noninvasive method of diagnosis, the aim of this study was to characterize the uterine blood flow in bitches with distinct uterine pathological conditions. For this purpose, we allocated 28 bitches into 3 groups, according to clinical signs, ultrasound analysis and uterine histological examination: Control Group (n = 6), CEH-mucometra Group (n = 10); Endometritis-Pyometra Group (n = 12). Scanning of the uterine horns by colour Doppler was performed for quantitative assessment of the overall uterine vascularization. With the use of colour Doppler, the uterine vessels were identified and the flow velocity waveforms generated with the pulsed-wave Doppler. Parameters of blood flow velocity, as well as hemodynamic parameters were calculated electronically. Groups showed quantitative variations of uterine vascularization: Control Group - minimum and maximum of score 1, CEH-Mucometra Group - minimum of score 1 and maximum of score 2; Endometritis-Pyometra Group - minimum of score 2 and maximum of score 4. No differences were observed between right and left uterine arteries for blood flow velocimetry. However, Control (SPV: 47.30 ± 2.63 ; EDV: 1.29 ± 0.54 ; TAMAX: 8.47 ± 1.13) and CEH-mucometra (SPV: 60.80 ± 4.50 ; EDV: 9.76 ± 0.77 ; TAMAX: 20.47 ± 0.12) groups showed lower blood flow velocities when compared to Endometritis-Pyometra Group (SPV: 86.72 ± 6.35 ; EDV: 33.34 ± 3.02 ; TAMAX: 48.34 ± 4.14). Conversely, Control (RI: 0.97 ± 0.01 ; PI: 6.45 ± 0.60 ; S/D: 78.83 ± 9.82) and CEH-mucometra (RI: 0.84 ± 0.008 ; PI: 2.59 ± 0.12 ; S/D: 6.73 ± 0.36) Groups presented higher hemodynamic indices in comparison to Endometritis-Pyometra Group (RI: 0.62 ± 0.02 ; PI: 1.22 ± 0.09 ; S/D: 2.86 ± 0.17). In the latest Group, uterine perfusion was characterized as continuous blood flow. This

study demonstrated that the changes in uterine diameter and especially, the presence of inflammatory process culminate with the rise in uterine blood flow, marked by low resistance and pulsatility. In addition, the severity of the uterine disease is associated with low blood flow, thus contributing to further elimination of the infectious agent. Doppler velocimetric evaluation may be a promising adjuvant diagnostic tool for uterine disorders, mainly because of its noninvasive feature. It may allow for the differential diagnosis between CEH-mucometra and endometritis-pyometra, whenever clinical symptoms and ultrasonographic findings are inconclusive. In conclusion, the blood flow velocity and the hemodynamic index of the uterine artery are fundamental compensatory mechanisms for the elimination of the infectious agent in endometritis-pyometra; uterine blood flow velocity and hemodynamic indices were determined for HEC-Pyometra; endometrial vascularization score and the waveforms differ in females with or without uterine disease; the Doppler ultrasound is a noninvasive diagnostic method, with sensitivity and specificity for the differential diagnosis of HEC-Mucometra and Endometritis-Pyometra in dogs.

Keywords: Mucometra, Endometritis, Pyometra, Diagnostic, Doppler, Bitches.

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 - Perfil epidemiológico e distribuição dos animais nos grupos experimentais de acordo com a classificação de De Bosschere et al. (2001). São Paulo, 2012..... 44
- Quadro 2 - Constituição dos grupos experimentais segundo classificação das afecções uterinas proposta por De Bosschere (2001) modificado. São Paulo, 2012..... 45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Valores de referência do eritrograma adotados pelo Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP. São Paulo, 2012	52
Tabela 2 -	Valores de referência do leucograma adotados pelo Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP. São Paulo. 2012.....	52
Tabela 3 -	Valores de referência da bioquímica sérica adotados pelo Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP. São Paulo. 2012.....	53
Tabela 4 -	Achados do exame físico, médias e desvios padrão dos parâmetros vitais obtidos previamente ao procedimento de ovariectomia em cadelas com e sem afecção uterina. São Paulo, 2012.....	56
Tabela 5 -	Valores absolutos dos exames hematológicos e bioquímicos previamente ao procedimento de ovariectomia, realizados em cadelas do Grupo Endometrite-Piometra. São Paulo, 2012.....	58
Tabela 6 -	Mensurações uterinas, realizadas em corte transversal de cadelas com e sem afecção uterina. São Paulo, 2012.....	60
Tabela 7	Médias e desvios padrão da velocidade do fluxo sanguíneo das artérias uterinas nos distintos grupos experimentais. São Paulo, 2012.....	62
Tabela 8	Escore de vascularização endometrial realizado pelo modo Doppler colorido em cadelas com e sem afecção uterina. São Paulo, 2012.....	66
Tabela 9	Coefficiente de correlação e de significância das variáveis contagem de hemácia, hematócrito, hemoglobina, RI, PI e S/D no Grupo HEC-Mucometra - São Paulo – 2012.....	72

Tabela 10	Coeficiente de correlação e de significância das variáveis contagem de hemácias, hematócrito, hemoglobina, número de bastonete, PS, ED, TAMAX, RI, PI e S/D no Grupo Endometrite-Piometra - São Paulo – 2012.....	73
Tabela 11	Coeficiente de correlação e de significância das variáveis número de hemácias, hematócrito, hemoglobina, contagem de leucócitos, EPCU, DTCU, RI, PI e S/D nos Grupos Controle, HEC-Mucometra e Endometrite-Piometra - São Paulo – 2012.....	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Mensurações realizadas durante a avaliação ultrasonográfica bidimensional (5,5 MHz) do corno uterino, direito e esquerdo, em corte transversal. (+) Espessura da parede uterina, (x) diâmetro do lúmen uterino, (*) diâmetro do corno uterino.....	47
Figura 2 -	Diagrama dos parâmetros de velocidade do fluxo sanguíneo utilizados para o cálculo dos índices hemodinâmicos.....	48
Figura 3 -	Diferentes escores utilizados na avaliação qualitativa da vascularização endometrial através do modo Doppler colorido em corte transversal do útero. Escores de 1 a 4.....	49
Figura 4 -	Imagem ultrasonográfica no modo-B. Corte transversal do corno uterino do animal 7. Evidente hiperplasia endometrial e conteúdo intra-luminal	59
Figura 5	Aspecto macroscópico, compatíveis com os achados ultrasonográficos do corno uterino do animal 7. E – endométrio; C – conteúdo intra-luminal	59
Figura 6	Velocidade do pico da sístole : velocidade do pico da diástole (S/D) nos grupos controle e com afecção uterina.....	63
Figura 7	Índice de Resistência Vascular (RI) nos grupos controle e com afecção uterina.....	63
Figura 8	Índice Pulsatilidade (PI) nos grupos controle e com afecção uterina.....	64
Figura 9	Onda de alta resistência no Grupo Controle. Nota-se a diminuição brusca da velocidade do pico sistólico	64
Figura 10	Onda de alta resistência no Grupo Controle. Nota-se a presença de fluxo reverso	64

Figura 11	Onda de alta resistência e baixa pulsatilidade no Grupo HEC-Mucometra.....	65
Figura 12	Onda de alta velocidade de fluxo, baixa resistência e pulsatilidade no Grupo Endometrite-Piometra.....	65
Figura 13	Hiperplasia endometrial no diestro (Grupo Controle). A – Aspecto macroscópico: endométrio hiperplasiado e ausência de secreção no lúmen uterino. B – Fotomicrografia do útero em diestro (Grupo Controle): espessamento da mucosa, presença de discreto edema intersticial e algumas glândulas sinuosas. H.E. – 50x.....	68
Figura 14	HEC-Mucometra. A – Aspecto macroscópico: endométrio hiperplasiado, presença de estrutura cística e conteúdo intra-uterino. B – Fotomicrografia da HEC-Mucometra: cistos pequenos e em pequena quantidade, com células epiteliais achatadas, ausência de alteração estromal e conteúdo hialino no lúmen glandular. Presença de pequenos focos hemorrágicos. H.E. – 100x.....	68
Figura 15	Piometra hiperplásica (A) – espessamento endometrial e conteúdo intrauterino pio-sanguíneo. Piometra atrófica (B) – endométrio atrofiado (seta preta) e conteúdo intra-uterino purulento.....	69
Figura 16	Fotomicrografia de Endometrite – células mononucleares, principalmente linfócitos, em grande quantidade no estroma endometrial. H.E. – 200x.....	69
Figura 17	Piometra hiperplásica. A – Fotomicrografia de ulceração com debris celulares no lúmen uterino. H.E. 100x. B – abscesso glandular. H.E. 200x.....	70
Figura 18	Fotomicrografia de metaplasia escamosa da superfície endometrial. H.E. 200x.....	70
Figura 19	Fotomicrografia de piometra atrófica. Ausência de glândulas endometriais (seta). H.E. 50x.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS

HEC	Hiperplasia Endometrial Cística
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
mm ³	Milímetros cúbicos
FA	Fosfatase Alcalina
AST	Aspartato Amino Transferase
PS	Velocidade máxima do pico da sístole
ED	Velocidade ao fim da diástole
TAMAX	Tempo médio da velocidade máxima
S/D	Relação sístole:diástole
RI	Índice de Resistência
PI	Índice de Pulsatilidade
PGF2 α	Prostaglandina F 2 alfa
μ g	Micrograma
kg	Kilograma
mg	Miligrama
OHE	Ováriohisterectomia
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
°C	Graus Celsius
MHz	Mega-hertz
Modo-B	Modo Bidimensional
CF	Color Flow Doppler
PW	Pulsed-Wave Doppler
PBS	Solução Tampão Fosfato-Salino

HE	Hematoxilina-Eosina
SRD	Sem raça definida
FC	Frequência cardíaca
Mil/mm ³	Milhões/mm ³
fl	Fentolitros
pg	Picograma
DTCUe	Diâmetro corno uterino esquerdo
DTCUd	Diâmetro corno uterino direito
EPCUe	Espessura corno uterino esquerdo
EPCUd	Espessura corno uterino direito
cm/s	Centímetros por segundo
ER	Receptor de estrógeno
PR	Receptor de progesterona
LPS	Lipopolissacarídeo
V.C.M	Volume corpuscular médio
H.C.M	Hemoglobina corpuscular média
C.H.C.M	Concentração de hemoglobina corpuscular
INF- γ	Interferon gama
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa
COX-2	Ciclooxigenase 2

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	24
2 HIPÓTESE.....	27
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	29
3.1 INCIDÊNCIA.....	29
3.2 ETIOPATOGENIA DA HEC-PIOMETRA.....	30
3.2.1 Hormônios endógenos e exógenos.....	30
3.2.2 Agentes infecciosos na HEC-Piometra.....	32
3.3 CLASSIFICAÇÃO DA HEC-PIOMETRA.....	34
3.4 DIAGNÓSTICO.....	37
3.4.1 Sinais e sintomas clínicos.....	37
3.4.2 Exames hematológicos.....	38
3.4.3 Exames bioquímicos.....	39
3.4.4 Exames de imagem.....	39
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
4.1 ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	43
4.2 AVALIAÇÕES CLÍNICA E LABORATORIAIS.....	45
4.3 AVALIAÇÃO ULTRASONOGRÁFICA.....	46
4.3.1 Avaliação ultrasonográfica bidimensional.....	46
4.3.2 Avaliação ultrasonográfica pelo Doppler espectral.....	47
4.3.3 Avaliação ultrasonográfica pelo Doppler colorido.....	49
4.4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO E PROTOCOLO ANESTÉSICO.....	50
4.5 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA.....	50
4.6 VALORES HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE REFERÊNCIA.....	51

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	53
5 RESULTADOS.....	55
5.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA.....	55
5.2 AVALIAÇÃO ULTRASONOGRÁFICA BIDIMENSIONAL.....	59
5.3 AVALIAÇÃO ULTRASONOGRÁFICA POR DOPPLER ESPECTRAL.....	62
5.4 AVALIAÇÃO ULTRASONOGRÁFICA POR DOPPLER COLORIDO.....	66
5.5 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA E HISTOLÓGICA.....	66
5.6 TESTES DE CORRELAÇÃO.....	71
6 DISCUSSÃO.....	76
6.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA.....	76
6.2 AVALIAÇÃO ULTRASONOGRÁFICA POR DOPPLER ESPECTRAL.....	77
6.3 AVALIAÇÃO ULTRASONOGRÁFICA POR DOPPLER COLORIDO.....	81
6.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	82
7 CONCLUSÃO.....	84
REFERÊNCIAS.....	86

INTRODUÇÃO



1 INTRODUÇÃO

A determinação dos mecanismos etiológicos e o diagnóstico diferencial das afecções do complexo Hiperplasia Endometrial Cística (HEC) – Piometra constitui-se em desafio às pesquisas direcionadas às alterações reprodutivas em pequenos animais. Frequentemente, o médico veterinário deve optar por conduta terapêutica radical de tal enfermidade, como a esterilização cirúrgica, uma vez que o diagnóstico definitivo é estabelecido tardiamente e a saúde sistêmica do animal, na grande maioria dos casos, está severamente comprometida.

Muitos pesquisadores consideram a HEC como fase inicial da evolução nosológica para a piometra (síndrome HEC-Piometra) (DOW, 1959; HARDY; OSBORNE, 1974), enquanto outros afirmam que a HEC e a piometra sejam afecções independentes (DE BOSSCHERE et al., 2001). O desenvolvimento desta síndrome está vinculado à ação conjunta dos hormônios esteroidais, progesterona e estrógeno, durante sucessivos ciclos reprodutivos, culminando em alterações endometriais caracterizadas por reação inflamatória exsudativa e degenerativa. Tais alterações aumentam a susceptibilidade uterina à infecção bacteriana de origem ascendente. Contudo, as cadelas com HEC-Piometra podem apresentar lesões uterinas de caráter histológico sem qualquer manifestação clínica aparente (FIENI, 2006). Embora a HEC-Piometra seja uma afecção comumente vivenciada na clínica de pequenos animais, as divergentes teorias em relação à classificação clínica e histológica da doença dificultam a realização do diagnóstico preciso e precoce.

Frequentemente, as cadelas com HEC-Piometra são apresentadas aos clínicos com histórico de cio há no mínimo duas semanas ou aciclicidade, principalmente cadelas idosas, em razão da senescência reprodutiva (SMITH, 2006). É importante ressaltar que além da avaliação clínica, exames laboratoriais complementares e, principalmente, de imagem são indispensáveis para o diagnóstico presuntivo desta afecção. Considera-se o exame ultra-sonográfico bidimensional transabdominal uma ferramenta diagnóstica não invasiva eficiente, pois permite estabelecer o aumento de volume uterino, a espessura endometrial e a presença de estruturas císticas na HEC-Piometra. Ademais, tal exame caracteriza o conteúdo intraluminal, este geralmente de aspecto homogêneo. No entanto, a presença de fluido com ecogenicidade reduzida também pode ser evidenciada

(VOGES; NEUWIRTH, 1996; NYLAND; MATTOON, 2002). Não é incomum a avaliação ultrasonográfica bidimensional inconclusiva perante às afecções uterinas, principalmente quando a sintomatologia clínica é discreta ou ausente. Tal exame, mesmo quando realizado por especialista experiente e equipamentos de alta definição de imagem, mostra-se pouco sensível, bem como específico. Por este motivo, a imprecisão diagnóstica predispõe o clínico a tratamentos, muitas vezes, errôneos.

A ultrasonografia Doppler é um meio de diagnóstico promissor para determinação das características hemodinâmicas do trato genital, especificamente inflamatórias ou locais e, por conseguinte, estabelecer prognósticos, formas complementares de tratamento e acompanhamento da terapia (COELHO, 1998). Destarte, a avaliação da resposta inflamatória uterina, mediante a elucidação da velocidade do fluxo sanguíneo das artérias uterinas e o padrão da vascularização endometrial na HEC-Piometra, poderão contribuir para a propedêutica precisa, bem como para o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na fisiopatogenia desta afecção na espécie canina.

Em face do exposto, são objetivos do presente estudo:

- 1) Quantificar a vascularização endometrial durante o diestro e na HEC-Piometra;
- 2) Caracterizar:
 - a. A velocidade do fluxo sanguíneo e os índices hemodinâmicos das artérias uterinas durante o diestro e na HEC-Piometra;
 - b. As diferenças histológicas entre os tecidos uterinos normais e com HEC-Piometra
- 3) Correlacionar as alterações clínicas e laboratoriais com os achados ultra-sonográficos e histológicos nos tecidos uterinos de cadelas com HEC-Piometra.

HIPÓTESE



2 HIPÓTESE

A diminuição da impedância vascular uterina em cadelas com HEC-Piometra está diretamente relacionada à severidade dos sinais e sintomas clínicos, bem como às alterações hematológicas e bioquímicas.

REVISÃO DE LITERATURA



3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Incidência da HEC-Piometra

A HEC-Piometra é uma afecção uterina prevalente em cadelas adultas e não castradas, caracterizada por inflamação e infecção, associada ou não a alterações sistêmicas significativas e potencialmente fatais (BORRENSEN, 1977). Estudos retrospectivos demonstram que fatores como a idade, a raça e o número de gestações estão relacionados ao desenvolvimento da HEC-Piometra (CHANSTAIN et al., 1999; EGENVALL et al., 2001; FUKUDA, 2001; HAGMAN et al., 2011).

FUKUDA (2001) demonstrou que a incidência da HEC-Piometra, durante um período de doze anos (1988-1999) em 165 cadelas da raça Beagle, foi de 15,2% em fêmeas com idade superior a 4 anos, sendo a idade média de $9,36 \pm 0,35$ anos. Já em países como a Suécia, onde procedimentos de contracepção cirúrgica são realizados apenas como medida terapêutica e não profilática, a incidência de HEC-Piometra durante um período de dois anos (1995-1996) foi de 2% em cadelas com idade inferior a 10 anos (EGENVALL et al., 2001).

Dentre as raças consideradas predispostas à HEC-Piometra, mencionam-se fêmeas Rottweiler, Collie, Golden Retriever, Labrador Retriever e Pastor Alemão (NISKANEN; THRUSFIELD, 1998). Com base em relatos prévios, Hagman et al. (2011) estudaram 87 casos de piometra envolvendo tais raças e demonstraram que o Pastor Alemão apresenta maior ocorrência ($n=26$), seguida de Golden Retriever ($n=24$), Labrador Retriever ($n=16$), Rottweiler ($n=13$) e Collie ($n=8$).

Considera-se a gestação como uma medida profilática à HEC-Piometra, uma vez que a incidência é significativamente elevada em cadelas nulíparas (FUKUDA, 2001). No entanto, existe uma variação racial e individual, principalmente em relação a fêmeas da raça Golden Retriever. De acordo com Hagman et al. (2011), a incidência de piometra em fêmeas nulíparas desta raça é significativamente baixa.

Embora muitos fatores sejam considerados de risco, tais como pseudociese, idade ao primeiro cio, duração e intervalo entre os períodos de cio, hormonioterapia, infecções prévias do trato urinário e neoplasias mamárias, não há até o momento

estudos que comprovem uma interação entre tais variáveis e o desenvolvimento do complexo HEC-Piometra.

3.2 Etiopatogenia da HEC-Piometra

Há décadas, diversas conjecturas divergem na tentativa de decifrar os mecanismos desencadeadores da HEC-Piometra. A estimulação hormonal, associada à infecção bacteriana, hormonioterapia, além da ação de fatores de crescimento e de inflamação são alguns dos principais focos de pesquisas direcionadas a esta afecção uterina na espécie canina.

3.2.1 Hormônios endógenos e exógenos

A HEC-Piometra é uma síndrome aguda ou crônica que envolve a ação conjunta dos hormônios esteroidais, estrógeno e progesterona. Muitos são os estudos relacionados às concentrações séricas de tais hormônios, bem como às mudanças nos seus receptores uterinos. Entretanto, pouco concluiu-se até o momento a respeito da ação pontual dos esteróides na patogenia da HEC-Piometra (HADLEY, 1975; DE BOSSCHERE et al., 2002; VERVERIDIS et al., 2004). Acredita-se que a exposição sucessiva do endométrio à estimulação estrogênica a cada ciclo estral, seguida do intervalo prolongado de dominância progestacional no diestro, seja responsável por alterações morfológicas descritas como inflamação e exsudação epitelial, tornando o útero suscetível à ação de agentes bacterianos (NISKANEN; THRUSFIELD, 1998; JOHNSTON; KUSTRITZ; OLSON, 2001). O estrógeno, hormônio predominante no proestro e estro, promove edema, aumento da vascularização e hiperplasia endometrial, dilatação e relaxamento da cérvix, bem como migração de leucócitos polimorfonucleares para o lúmen uterino (HARDY e OSBORNE, 1974). Para alguns autores, as concentrações elevadas de tal hormônio, previamente ao diestro, culminam no disparo da HEC-Piometra, em decorrência do aumento da sensibilidade uterina à ação subsequente da progesterona (LESSEY;

WAHAWISAN; GORELLO, 1981; VERVERIDIS et al., 2004). A progesterona é considerada um fator importante na patogenia da HEC-Piometra, uma vez que a doença desenvolve-se durante o diestro (BLENDINGER; BOSTEDT; HOFFMANN, 1997). Nesta fase, as concentrações elevadas da progesterona promovem proliferação e aumento da atividade secretória das glândulas endometriais, fechamento da cérvix e inibição da contratilidade miometrial (HARDY e OSBORNE, 1974). Ainda, é possível atribuir à progesterona um efeito supressor da imunidade celular, por impedir a migração leucocitária para o lúmen uterino. Desta maneira, este hormônio favorece o acúmulo de fluido no útero e predispõe o crescimento bacteriano (SUGIURA et al., 2004).

A resposta uterina à estimulação da progesterona e estrógeno é mediada pela presença de seus respectivos receptores (TSAI et al., 1998). Em 1997, De Cock et al. comprovaram, por imunistoquímica, que a progesterona não representa o hormônio precípua no desenvolvimento da HEC-Piometra. Durante a fase lútea, há aumento na expressão dos receptores de estrógeno; e o endométrio permanece responsivo a este hormônio, apesar das baixas concentrações séricas. Considera-se tal característica o principal precursor da contínua proliferação glandular, enquanto a progesterona atua promovendo o aumento da atividade secretória glandular durante o desenvolvimento da HEC-Piometra. Tais achados justificam relatos prévios, os quais demonstram que as concentrações séricas de progesterona são semelhantes em cadelas híginas e com HEC-Piometra (HARDLEY, 1975; DE COSTER et al., 1979; COLOMBO et al., 1982). VERVERIDIS et al. (2002) demonstraram que cadelas com HEC-Piometra apresentam concentrações séricas de estrógeno elevadas, porém não superiores àquelas encontradas no proestro e estro.

A localização diferenciada dos receptores de estrógeno e progesterona nas camadas do útero também pode influenciar na patogenia da HEC-Piometra. Em 1999, Dhaliwal et al. demonstraram haver redução de ambos os receptores no epitélio glandular e aumento do receptor de estrógeno-alfa no estroma endometrial. Por outro lado, estudos prévios de De Cock et al. (1997) relatam aumento dos receptores de estrógeno nas células do epitélio glandular e nas células do estroma endometrial. Posteriormente, pesquisas revelaram que a expressão dos receptores de progesterona é reduzida nas células profundas do epitélio da glândula endometrial (DE BOSSCHERE; DUCATELLE; TSHAMAL, 2003).

Geralmente, o desenvolvimento da HEC-Piometra em cadelas jovens está relacionado à hormonioterapia a base de estrógenos ou progestágenos de longa ação, respectivamente, para a indução ou supressão do estro (SMITH, 2006; WHITEHEAD, 2008). A espécie canina apresenta alta sensibilidade ao tratamento com estrógenos quando comparada às outras espécies (HART, 1990). Ademais, a administração de combinações de estrógeno-progesterona ou estrógenos durante o diestro aumenta a vulnerabilidade uterina à HEC-Piometra, uma vez que o estrógeno estimula a síntese de receptores e, conseqüentemente, amplifica a ação da progesterona nos tecidos uterinos (ATTIA, 1989; BOWEN et al., 1985). Em 2001, Chen et al. demonstraram que cadelas ovariectomizadas e tratadas com benzoato de estradiol, seguido de progesterona, apresentaram incidência elevada de HEC-Piometra quando comparadas àquelas tratadas com progestágenos ou benzoato de estradiol isoladamente. Apesar de induzir de maneira significativa o desenvolvimento da afecção, as alterações e a severidade das lesões uterinas, bem como os níveis séricos de progesterona em cadelas tratadas com contraceptivos são semelhantes às cadelas que desenvolvem HEC-piometra espontaneamente (DE BOSSCHERE et al., 2001).

3.2.2 Agentes infecciosos na HEC-Piometra

A *Escherichia coli* é a bactéria predominantemente isolada do útero de cadelas com HEC-Piometra (DOW, 1958; GRINDLAY; RENTON; RAMSAY, 1973; CHOI; KAWATA, 1975; SANDHOLM; VASENIUS; KIVISTO, 1975; BORRESEN e NAESS, 1977; NOMURA, 1984; FRANSSON et al., 1997). Tal agente é classificado como bactéria gram-negativa, que contém uma endotoxina rica em lipopolissacarídeo (LPS) e, quimicamente estável e biologicamente ativa na membrana celular (RIETSCHEL; SCHADE; JENSEN, 1982; MCANULTY, 1983). A destruição da bactéria resulta em liberação da endotoxina de maneira direta ou indireta por meio de mediadores inflamatórios, provocando lesão endometrial (NOAKES; PARKINSON; ENGLAND, 2001). As endotoxinas são as principais responsáveis pela sintomatologia clínica de cadelas com a afecção e, as concentrações plasmáticas elevadas de tais substâncias estão diretamente

associadas ao prognóstico ruim (OKANO; TAGAWA; TAKASE, 1998). Acredita-se que a contaminação uterina ocorra por via ascendente, sendo o trato urinário ou genitália externa os locais de origem (SANDHOLM; VASENIUS; KIVISTO, 1975; FRANSSON et al., 1997; VANDEPLASSCHE; CORYN; DESCHEPPER, 1991). Outros agentes encontrados, com menor frequência, incluem *Streptococcus hemolítico*, *Staphilococcus*, *Klebsiella*, *Pasteurella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Moraxella* entre outros (FRANSSON; RAGLE, 2003).

Estudos clássicos inferem que a concentração sérica de progesterona não é o fator determinante para o desenvolvimento do complexo HEC-Piometra. Todavia, a progesterona pode atuar como um fator contribuinte para a indução da doença, por promover a redução da atividade uterina bactericida, suprimindo a migração de células polimorfonucleares (BLACK et al., 1954; HAWK; TURNER; SYKES, 1960). A partir do 10^o ao 40^o dia do diestro, os receptores de estrógeno diminuem, simultaneamente à ação imune no útero (FERNANDES et al., 1989; TSUMAGARI et al., 2005). Considera-se que o período de maior susceptibilidade uterina à ação de agentes infecciosos é a fase inicial do diestro, período no qual os tecidos uterinos estão sob influência de concentrações elevadas de progesterona sérica (TSUMAGARI et al., 2005).

Os mecanismos de defesa não específicos são frequentemente estudados para auxiliar o entendimento da patogenia da HEC-Piometra. A lactoferrina, uma glicoproteína ligada ao ferro, pertencente à família das transferrinas, apresenta atividade bactericida potencial contra a *Escherichia coli*, por meio da limitação da disponibilidade de ferro nos tecidos (NUIJENS; VAN BERKEL, 1996; SALLMANN et al., 1999). De acordo com Kida et al. (2006), a expressão de lactoferrina no útero durante a HEC-Piometra está relacionada às concentrações séricas de estrógeno e a diminuição significativa desta glicoproteína no período inicial do diestro pode prejudicar o mecanismo de defesa do organismo. Os referidos pesquisadores demonstraram aumento marcante na expressão gênica da lactoferrina, principalmente nos neutrófilos presentes no útero de cadelas com a afecção, e concluíram que este mecanismo minimiza ou anula a ação bacteriana nos tecidos.

Dentre as várias ações das endotoxinas no organismo, a síntese de prostaglandinas (PG) é considerada de fundamental importância durante a inflamação. As enzimas cicloxigenases representam o disparo para síntese de PG a partir da cascata do ácido araquidônico (HELLIWELL et al., 2004). Em bovinos, as

células epiteliais do endométrio sintetizam $\text{PGF2}\alpha$, enquanto as células estromais sintetizam e secretam PGE2 ambas as PG são originárias de um precursor comum, a PGH2 (ASSELIN; FORTIER, 1996). É de conhecimento comum que o útero de cadelas sintetiza e secreta $\text{PGF2}\alpha$ durante a gestação e, a mensuração do seu metabólito no sangue pode ser utilizada no diagnóstico diferencial entre HEC-Mucometra e piometra (HAGMAN et al., 2005; LUZ et al., 2006).

3.3 Classificação da HEC-Piometra

Muitas são as sinonímias e os critérios de classificação do complexo HEC-Piometra. De acordo com a patência do colo uterino, esta afecção pode ser classificada como piometra de cérvix aberta, com conseguinte drenagem do conteúdo intra-luminal; ou piometra de cérvix fechada, sendo o conteúdo restrito ao útero e, portanto, afecção de caráter emergencial (SMITH, 2006). Considera-se a infiltração de neutrófilos na cérvix o fator responsável pela alteração funcional deste tecido (CAWSTON, 1996; WINKLER et al., 1999). Recentes estudos elucidam que cadelas com piometra de cérvix aberta apresentam maior infiltrado neutrofílico, resultando na produção da enzima colagenase, a qual degrada o colágeno e promove aumento da permeabilidade tecidual, conseqüentemente, relaxamento da cérvix. Os mesmos autores demonstraram que em cadelas com piometra não é possível estabelecer uma relação entre o relaxamento cervical e a expressão dos receptores de estrógeno e progesterona (KUNKITTI et al., 2011).

As alterações histológicas encontradas no útero permitem classificar a HEC e a Piometra em diferentes estágios de desenvolvimento da doença ou em entidades de ocorrência independentes (DOW, 1957; DE BOSSCHERE et al., 2001). Estudos pioneiros de Dow, iniciados em 1957, foram os responsáveis pela nomeação desta síndrome em HEC-Piometra. Com base precipuamente nos achados histológicos, Dow classificou a Piometra em uma sequência de eventos alocados em 4 grupos:

- Grupo I - denominado de HEC não complicada; as lesões endometriais foram caracterizadas por hipertrofia glandular associada à presença de cistos de até 1 cm de diâmetro e ausência de reação inflamatória.

- Grupo II - a HEC é classificada como complicada, acompanhada por processo inflamatório caracterizado pela presença de células plasmocitárias distribuídas difusamente no estroma e concentradas, principalmente, nas criptas e zonas sub-epiteliais do endométrio.
- Grupo III – denominado de HEC com endometrite aguda, caracterizado por infiltrado inflamatório, com predominância de polimorfonucleares na região das criptas e eventual migração, em quadros mais avançados, para as camadas profundas do endométrio, além da formação de abscessos ao redor das glândulas. Em algumas situações, evidencia-se processo inflamatório no miométrio.
- Grupo IV – refere-se à HEC com endometrite crônica. As alterações histológicas variam de acordo com a patência da cérvix. Em cadelas com cérvix aberta, é possível evidenciar hipertrofia miometrial e fibrose, enquanto o endométrio apresenta atrofia, com poucas estruturas glandulares, fibrose no estroma, infiltração de linfócitos e poucas células plasmocitárias. Todavia, nos casos em que a cérvix encontra-se fechada, a atrofia no endométrio é significativa, de maneira que poucas fibras separam o miométrio do epitélio. O endométrio comumente apresenta metaplasia escamosa e a atrofia do miométrio demonstra fibras musculares alongadas.

Durante várias décadas, a classificação de Dow foi, e ainda é amplamente utilizada. Não obstante, pesquisadores em estudos contraditórios alegam que a correlação da graduação de Dow com a apresentação clínica é incerta. Em 2001, De Bosschere et al., em avaliação mais detalhada das enfermidades uterinas, classificaram em HEC-mucometra e endometrite-piometra. Para os referidos autores, as duas entidades ocorrem de maneira independente e não representam uma sequência de eventos, conforme inicialmente proposto por Dow (1957). Embora a aparência histológica de tais afecções seja semelhante, o que as diferencia é o processo inflamatório presente na endometrite-piometra. Desta maneira, a HEC-mucometra pode ser classificada em HEC moderada, HEC severa e mucometra, enquanto que a endometrite-piometra é dividida em endometrite, piometra hiperplasia e piometra atrófica.

Na HEC-mucometra, as cadelas apresentam-se clinicamente saudáveis e as alterações histológicas são representadas por hiperplasia e hipertrofia das glândulas endometriais, além de variação do tamanho dos cistos, presença de edema

estromal, congestão vascular e pequenos focos de hemorragia. A endometrite-piometra foi evidenciada em cadelas que apresentavam sintomatologia clínica decorrente do processo inflamatório instalado. Na endometrite, o endométrio encontra-se repleto de neutrófilos, linfócitos e células plasmocitárias, além de proliferação de fibroblastos no estroma e edema evidentes. A piometra hiperplásica é caracterizada por severo infiltrado inflamatório, com grande quantidade de neutrófilos, macrófagos, linfócitos e células plasmocitárias presentes em proporções variáveis no lúmen uterino, nas glândulas endometriais, no estroma epitelial e miometrial. Ocasionalmente, observa-se moderada a severa proliferação de fibroblastos no estroma, presença de úlceras, necrose, hemorragia, abscesso e metaplasia escamosa na superfície do epitélio endometrial. A piometra atrófica é relatada por atrofia significativa do endométrio com pouca evidência de cistos, estroma e glândulas, enquanto o miométrio encontra-se hiperplásico. Os achados de De Bosschere (2001) corroboram estudos prévios, os quais demonstram que cadelas clinicamente saudáveis podem apresentar lesões uterinas de grau moderado a severo, e correlacionam a HEC com infertilidade (BARTON, 1992; FELDMAN; NELSON, 1996). Outro fator que atesta a classificação de HEC-mucometra e endometrite-piometra como duas afecções independentes é que ambas iniciam-se no diestro, poucos são os casos durante o anestro. Entretanto, tal característica não exclui a possibilidade de cadelas com HEC-mucometra apresentarem predisposição para desenvolver endometrite-piometra (DE BOSSCHERE et al., 2001).

O padrão de expressão diferenciado dos receptores de estrógeno e progesterona no útero de cadelas com HEC-mucometra e endometrite-piometra comprova os achados iniciais de De Bosschere e colaboradores, realizados em 2001 (DE BOSSCHERE et al., 2002; DE BOSSCHERE et al., 2003). Na HEC-mucometra, a expressão contínua dos receptores de estrógeno (ER) mantém o endométrio responsivo, mesmo em concentrações séricas reduzidas. Conseqüentemente, há proliferação das glândulas endometriais durante o diestro, mesmo sob influência marcante da progesterona (DE COCK et al., 1997; DE BOSSCHERE et al., 2002). Todavia, a expressão dos hormônios esteroidais na endometrite-piometra é semelhante ao padrão descrito no início da gestação (NOMURA, 1983). Os receptores de progesterona em concentrações elevadas estimulam a produção de muco pelas glândulas endometriais, enquanto a presença da bactéria no lúmen

uterino induz a alterações císticas e hiperplásicas, por mecanismos semelhantes à presença do óocito fertilizado durante o início da placentação (DE BOSSCHERE et al., 2002).

3.4 Diagnóstico

Além do histórico reprodutivo e da avaliação clínica, exames complementares de laboratório e, principalmente, de imagem são indispensáveis para a confirmação diagnóstica das afecções uterinas.

3.4.1 Sinais e sintomas clínicos

A sintomatologia clínica da HEC-Piometra é variável de acordo com o grau de lesão uterina e o tempo decorrido até a confirmação do diagnóstico. Ademais, o comprometimento de outros órgãos está na dependência do relaxamento ou contração da cérvix (DOW, 1957; DOW, 1958; EWALD, 1961; HARDY e OSBORNE, 1974). As cadelas com HEC não complicada ou mucometra comumente não apresentam sintomatologia clínica evidente. Em alguns casos, pode-se notar distensão uterina pelo acúmulo de fluido; em outros casos, as alterações endometriais podem resultar em falhas na concepção e infertilidade (PRESTES et al., 1997).

Na piometra de cérvix aberta, o achado mais comum é a presença de secreção vaginal sanguínea a mucopurulenta e, frequentemente, apresenta odor fétido (DOW, 1957; DOW, 1958; HARDY e OSBORNE, 1974; EWALD, 1961). Entretanto, na piometra de cérvix fechada não há evidências de secreção vaginal, o que resulta em distensão abdominal proporcional ao diâmetro uterino (PRETZER, 2008). Em ambas as situações, a liberação de endotoxinas na circulação sanguínea durante a proliferação ou destruição do agente infeccioso resulta em alterações sistêmicas caracterizadas por letargia, depressão, inapetência, poliúria e polidipsia, vômito e diarreia. No entanto, tais sinais são mais severos na piometra de cérvix

fechada e podem evoluir para desidratação, toxemia, hipotensão e choque (GOODWIN; SCHAER, 1989; HARDIE, 1995; PANCIERA et al., 2003).

3.4.2 Exames hematológicos

Em razão do processo infeccioso, as cadelas com HEC-Piometra comumente apresentam leucocitose, mais pronunciada em cadelas com a cérvix fechada (FELDMAN; NELSON, 1989; GANDOTRA et al., 1994). O processo inflamatório associado à infecção resulta em neutrofilia, com valores frequentemente superiores a 25.000 células/mm³ (FELDMAN; NELSON, 1996). Com a cronicidade e severidade da infecção, é notório desvio à esquerda com presença de granulações tóxicas nos neutrófilos. Entretanto, em casos de endotoxemia, a neutropenia é a alteração evidenciada (AYYAPPAN et al., 1992). Os achados do eritrograma revelam alterações como anemia normocítica normocrômica não regenerativa em aproximadamente 25% das cadelas com HEC-Piometra (WHEATON et al., 1989).

3.4.3 Exames bioquímicos

A cronicidade do processo inflamatório na HEC-Piometra é acompanhada por disfunção tubular e/ou glomerular (HEIENE et al., 2007; MADDENS et al., 2010). A taxa de filtração glomerular é o método diagnóstico de maior eficiência para avaliar a função renal (LEVEY, 1989). Considera-se a azotemia pré-renal como um processo secundário à estimulação crônica do sistema imune pelos antígenos da *Escherichia coli*, tais imuno-complexos precipitam nos glomérulos e resultam em glomerulonefrite (SANDHOLM et al., 1975; NEWMAN et al., 2006). Se uma cadela desidratada ou azotêmica possui baixa densidade específica da urina (<1.030), sugerindo diminuição da capacidade de concentração urinária, pode-se concluir que está ocorrendo disfunção renal primária. As concentrações séricas de creatinina e de nitrogênio derivado da uréia podem refletir tanto a afecção renal primária quanto a desidratação pré-renal e hipovolemia (STONE et al., 1998).

Ocasionalmente, a HEC-Piometra resulta em aumento dos níveis séricos de fosfatase alcalina (FA) e aspartato amino-transferase (AST), ambas de origem hepática. Tais alterações ocorrem como resultado de danos hepatocelulares causados pelo quadro de septicemia e/ou diminuição da circulação hepática secundária à hipóxia celular em cadelas desidratadas (FELDMAN e NELSON, 1996).

3.4.4 Exames de imagem

A avaliação radiográfica do abdômen não é considerada um exame valioso para o diagnóstico da HEC-Piometra, uma vez que os resultados obtidos revelam a presença de estrutura tubular contendo fluido denso, localizada em região ventro-caudal do abdômen e deslocamento de segmentos de alça intestinal para a região crânio-dorsal. Tais resultados podem ser igualmente encontrados durante a gestação, previamente à calcificação do esqueleto fetal e, por tal razão, o exame radiográfico não é comumente realizado para diagnóstico (STONE et al., 1998).

Considera-se o exame ultra-sonográfico bidimensional transabdominal uma eficiente ferramenta diagnóstica não invasiva, pois permite confirmar o aumento de volume uterino, a espessura da camada endometrial e a presença de estruturas císticas na HEC-Piometra. Ademais, tal exame caracteriza o conteúdo intraluminal, geralmente homogêneo. No entanto, a presença de fluido com ecogenicidade reduzida também pode ser evidenciada (VOGES; NEUWIRTH, 1996; NYLAND e MATTOON, 2002).

Em 2004, Bigliardi et al. correlacionaram os achados ultra-sonográficos de 45 cadelas que apresentavam sintomatologia sugestiva de piometra com os achados do exame histológico do útero. As alterações ligadas à integridade do endométrio, presença ou ausência de exsudato e hiperplasia glandular foram avaliadas pelo exame de imagem. De acordo com tais pesquisadores, a ultra-sonografia é uma ferramenta diagnóstica de grande magnitude que permite diferenciar a HEC-Piometra de graus III e IV, segundo a classificação de Dow (1957), bem como a mucometra, piometra hiperplásica e atrófica, de acordo com a classificação de De Bosschere (2001).

Em Medicina Veterinária, apesar da caracterização ultra-sonográfica do trato reprodutivo estar bem estabelecida, pouca atenção tem sido atribuída à avaliação do suprimento vascular do útero (ROOT; SPAULDING, 1994; STOWATER et al., 1989; ALVAREZ-CLAU; LISTE, 2005). A análise das artérias uterinas por meio do exame ultra-sonográfico por Doppler tem grande aplicabilidade clínica em obstetrícia, bem como na ginecologia em mulheres e várias espécies animais (TAYLOR; QUEDENS-CASE, 1995; BOLLWEIN et al., 2004). O efeito Doppler é dependente da velocidade do fluxo sanguíneo, a velocidade do som, o ângulo de insonação, a direção do vaso mensurado e a frequência do transdutor (BLANCO et al., 2008). Sendo assim, as hemácias em movimento dentro dos vasos, ao encontrarem uma onda sonora, apresentam-se como corpos refletivos (FEIGENBAUM, 1986; VERMILLON, 1997). Os sinais sonoros do Doppler são convertidos em sinais gráficos e a interpretação fornece informações referentes às velocidades do fluxo sanguíneo e aos índices hemodinâmicos. Cada ciclo cardíaco é representado por uma onda de velocidade de fluxo bifásica, desta maneira, a parte ascendente e descendente inicial da onda representa o fluxo de ejeção durante a sístole cardíaca (velocidade máxima do pico da sístole – PS), enquanto a diástole é evidenciada pela parte descendente final da onda (velocidade ao fim da diástole – ED). O tempo médio da velocidade máxima de um ciclo cardíaco é representado pela variável TAMAX. Os índices hemodinâmicos são caracterizados pela relação sístole/diástole (S/D), índice de resistência (RI) e o índice de pulsatilidade (PI). Os fatores que determinam a parte desce final e diastólica da onda são a resistência vascular periférica, a complacência vascular e a viscosidade do sangue (MONTENEGRO et al., 1986). Considera-se o exame de Doppler uma técnica fidedigna, pois oferece informações anatômicas e funcionais da vascularização em tempo real (NAUTRUP e TOBIAS, 2000; NICOLAIDES et al., 2000).

É de comum conhecimento que a avaliação do bem estar fetal é beneficiada com a utilização da ultrasonografia Doppler. Esta tecnologia disponibiliza, de forma não invasiva, a possibilidade de identificação de casos de insuficiência placentária e de avaliação das alterações hemodinâmicas fetais que ocorrem em resposta ao déficit de oxigênio, bem como permite a identificação de alterações relacionadas à restrição do crescimento fetal e a predição da pré-eclâmpsia (HARRINGTON et al., 1996; FRANCISCO E ZUGAIB, 2008). Ainda em mulheres, além da aplicabilidade durante a gestação, o Doppler é uma ferramenta importante em situações

patológicas do útero. Estudos demonstram a importância do Doppler na caracterização da vascularização nos casos de endometriose, bem como em situações hiperplásicas e neoplásicas no útero, além da diferenciação pré-cirúrgica entre neoplasias ovarianas de caráter benigno e maligno (EMOTO et al., 2000; SAVELLI et al., 2012).

Atualmente, a ultra-sonografia Doppler passou a ser empregada para o acompanhamento da gestação e monitoração da viabilidade fetal em cadelas e gatas (NAUTRUP, 1998; DI SALVO et al., 2006; MIRANDA; DOMINGUES, 2010; SCOTTI et al., 2008; BRITO et al., 2010). Ademais, tal técnica é utilizada para caracterizar a circulação das artérias uterinas e ovarianas em cadelas nas diferentes fases do ciclo estral (KÖSTER et al., 2001; FREITAS et al., 2002; ALVAREZ-CLAU; LISTE, 2005). Entretanto, não há até o momento estudos que demonstrem as alterações hemodinâmicas do útero em condições patológicas na espécie canina.

MATERIAIS E MÉTODOS



4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido no Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP) e obedeceu as normas estabelecidas pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FMVZ-USP.

4.1 Animais e grupos experimentais

Para o desenvolvimento do presente estudo, 28 cadelas foram avaliadas; de raças distintas, com idade variável entre 2 e 13 anos e peso corporal superior a 5 kg. O critério de exclusão adotado neste estudo referiu-se à terapia hormonal e à piometra de cérvix fechada.

A distribuição dos animais nos grupos experimentais (Quadro 1) foi realizada com base na avaliação clínica prévia à ovariectomia (OHE), bem como nos achados histológicos sugeridos na classificação de De Bosschere (2001) (Quadro 2). É importante ressaltar que os grupos foram divididos não apenas em relação à afecção uterina, mas também em razão da presença ou ausência de processo inflamatório no útero, de maneira que a endometrite e a piometra foram consideradas um único grupo experimental.

Todas as fêmeas foram submetidas ao procedimento cirúrgico no período de aproximadamente $45,43 \pm 8,21$ dias após o último cio (média de 5,5 semanas – segunda fase do diestro), segundo dados obtidos na anamnese para as cadelas dos Grupos HEC-Mucometra e Endometrite-Piometra. Para a formação do Grupo Controle, fêmeas em proestro ou estro foram monitoradas periodicamente por meio de citologia vaginal até a caracterização do primeiro dia do diestro, definido por ausência de células superficiais e aparecimento de células intermediárias e neutrófilos, sendo submetidas ao procedimento cirúrgico entre o 40º e 50º dia do diestro. No Grupo HEC-Mucometra, foram alocadas fêmeas com HEC moderada, severa e mucometra. Já o Grupo Endometrite-Piometra foi caracterizado por fêmeas apresentando endometrite, piometra atrófica ou piometra hiperplásica (Quadro 1).

Quadro 1 - Perfil epidemiológico e distribuição dos animais nos grupos experimentais de acordo com a classificação de De Bosschere et al. (2001). São Paulo, 2012

ANIMAL	RAÇA	PESO (Kg)	IDADE (Anos)	GRUPO
1	SRD	7	2	Controle
2	SRD	15	5	Controle
3	Golden Retriever	30	6	Controle
4	Golden Retriever	28	5	Controle
5	Golden Retriever	25	6	Controle
6	SRD	6	2	Controle
7	SRD	18	5	HEC-Mucometra
8	SRD	6,5	3	HEC-Mucometra
9	Rottweiler	48	8	HEC-Mucometra
10	SRD	25	6	HEC-Mucometra
11	SRD	11	8	HEC-Mucometra
12	Maltês	5	8	HEC-Mucometra
13	Shitzu	5	6	HEC-Mucometra
14	SRD	7	4	HEC-Mucometra
15	SRD	10	6	HEC-Mucometra
16	SRD	6	5	HEC-Mucometra
17	Weimaraner	36	12	Endometrite-Piometra
18	Pitbull	20	5	Endometrite-Piometra
19	Daschund	12	11	Endometrite-Piometra
20	Pitbull	25	13	Endometrite-Piometra
21	Labrador	50	10	Endometrite-Piometra
22	Cocker Spaniel	14	8	Endometrite-Piometra
23	Pitbull	23	10	Endometrite-Piometra
24	Golden Retriever	29,6	10	Endometrite-Piometra
25	Poodle	6	10	Endometrite-Piometra
26	Pitbull	29,4	10	Endometrite-Piometra
27	Pitbull	25	7	Endometrite-Piometra
28	Pitbull	21	6	Endometrite-Piometra

Quadro 2 – Constituição dos grupos experimentais segundo classificação das afecções uterinas proposta por De Bosschere (2001) modificado. São Paulo, 2012

Grupo	Sintomatologia	Reação inflamatória	Histologia uterina
Fêmeas em diestro (controle, n=6)	Ausente	Ausente	Ausência de cistos endometriais
HEC -mucometra (n=10)	Secreção vaginal serosa ou mucosa, ausente ou discreta	Ausente	Cistos endometriais ausentes / Pequenos e em pequena quantidade / Grandes e em grande quantidade
Endometrite / Piometra (n=12)	Secreção vaginal sanguínea e/ou purulenta, alterações sistêmicas leves* ou severas**	Moderada / Severa	Cistos endometriais ausentes / Pequenos e em pequena quantidade / Grandes e em grande quantidade

*anorexia, letargia

**anorexia, letargia, vômito, poliúria, polidipsia, toxemia e choque

4.2 Avaliações clínica e laboratorial

À anamnese, dados relativos à data do último cio, intervalo e regularidade dos cios e número de gestações foram obtidos. Questionamentos relacionados ao estado geral do animal também foram realizados (ingestão alimentar, ingestão hídrica, episódios eméticos, quantidade e frequência de micção e defecação e administração de medicamentos). Durante o exame físico geral, os animais foram avaliados quanto à temperatura corporal, frequência cardíaca e respiratória, coloração de mucosas, grau de hidratação e tempo de preenchimento capilar. Durante o exame físico específico, a presença ou ausência de secreção vaginal, seu aspecto, bem como a coloração da mucosa vaginal foram identificados. As glândulas mamárias foram avaliadas em relação à presença de secreção, aumento de volume e sensibilidade, enquanto o útero, através de palpação abdominal, foi avaliado para predição de alteração no diâmetro e presença de sensibilidade abdominal.

Previamente ao procedimento cirúrgico, exames laboratoriais hematológicos e bioquímicos (hemograma, uréia e creatinina, ALT e FA) foram realizados. As

amostras de sangue foram colhidas, após assepsia, por punção da veia cefálica direita ou esquerda. As amostras de sangue para hemograma e contagem de plaquetas foram armazenadas em tubo com anticoagulante (EDTA), seguido da confecção de esfregaço sanguíneo utilizado para contagem diferencial de leucócitos. As amostras de sangue para realização dos exames de bioquímica sérica foram depositadas em tubo com gel separador com ativador de coágulo e centrifugadas a 1500 g por 10 minutos. O soro assim obtido foi armazenado em freezer a -20°C até o processamento por métodos enzimáticos colorimétricos. As análises sanguíneas foram realizadas em laboratórios clínicos veterinários, utilizando-se técnicas previamente validadas para a espécie canina.

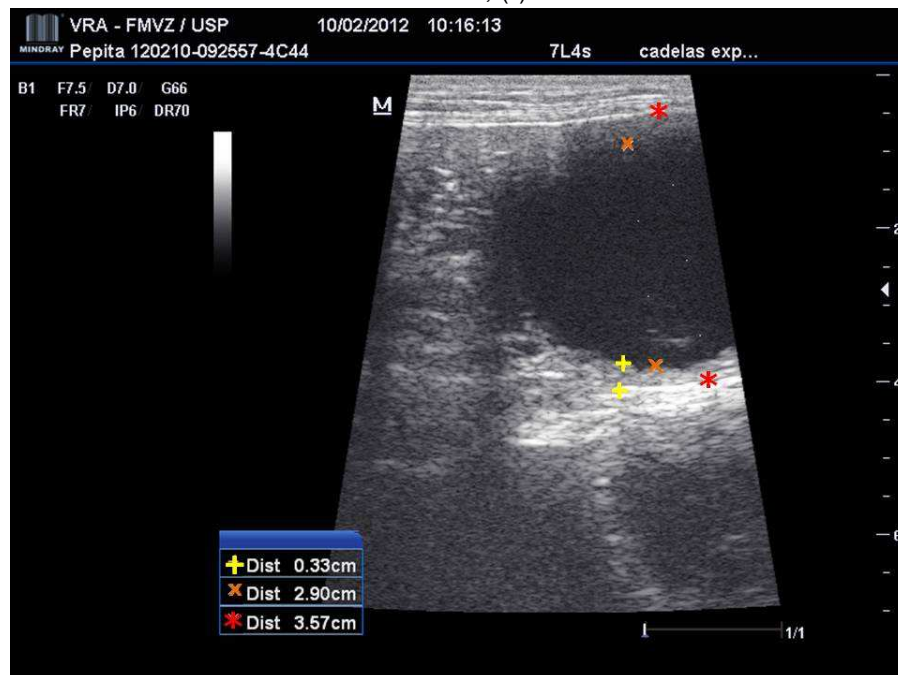
4.3 Avaliação ultrasonográfica

A avaliação ultrasonográfica foi realizada previamente ao procedimento anestésico sempre pelo mesmo operador, com equipamento da marca Mindray, modelo M5, equipado com transdutor linear de 5,5 MHz. As fêmeas foram posicionadas em decúbito lateral, direito e esquerdo, e a avaliação realizada por via transabdominal.

4.3.1 Avaliação ultrasonográfica bidimensional

A localização anatômica e as mensurações relacionadas ao diâmetro uterino, presença de conteúdo intraluminal e características endometriais (espessamento e aspecto cístico) foram inicialmente realizadas pelo modo-B convencional, com imagens em escala de cinza (Figura 1).

Figura 1 - Mensurações realizadas durante a avaliação ultrasonográfica bidimensional (5,5 MHz) do corno uterino, direito e esquerdo, em corte transversal. (+) Espessura da parede uterina, (x) diâmetro do lúmen uterino, (*) diâmetro do corno uterino



4.3.2 Avaliação ultrasonográfica por Doppler espectral

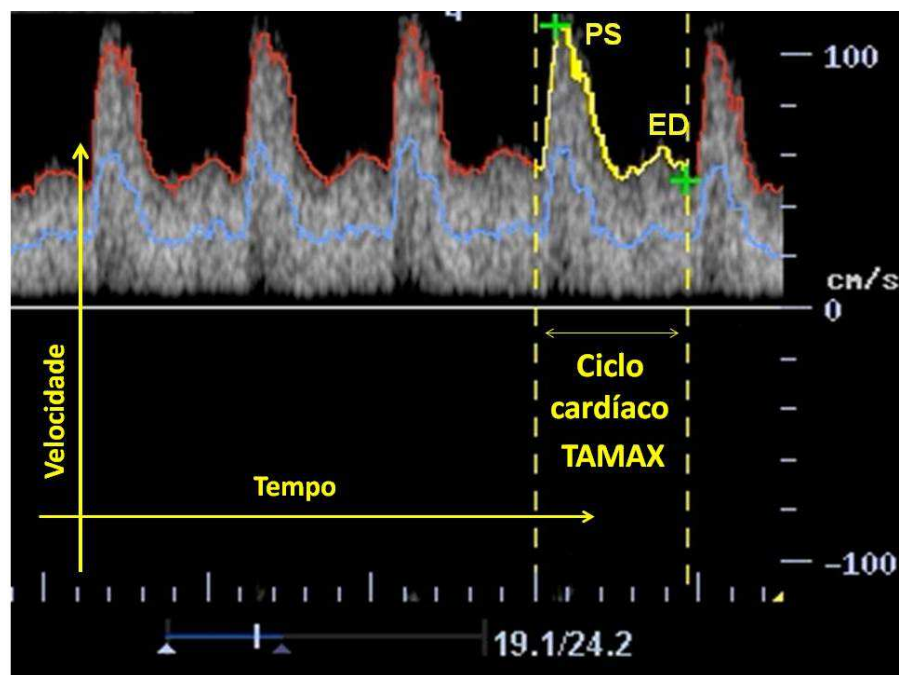
Para avaliação da perfusão tecidual e velocidade do fluxo sanguíneo no útero, utilizou-se a ultrasonografia Doppler. A dinâmica vascular das artérias uterinas, direita e esquerda, foi mensurada após o escaneamento dos vasos através do modo-B. As mensurações foram realizadas preferencialmente na região lateral do corpo uterino, em corte longitudinal, utilizando-se a vesícula urinária como janela acústica. O Doppler colorido (*colour-flow Doppler*, CF) foi inicialmente utilizado para o mapeamento dos vasos e, posteriormente, o Doppler pulsado ou espectral (*pulsed-wave Doppler*, PW) foi utilizado para caracterizar a forma da onda. Os parâmetros de velocidade do fluxo sanguíneo (PS, ED e TAMAX) e os índices hemodinâmicos (RI, PI, S/D) foram calculados automaticamente pelo software do equipamento (Figura 2), utilizando-se as seguintes fórmulas matemáticas ou índice de Pourcelot:

$$RI = \frac{\text{Velocidade do pico sistólico (PS)} - \text{Velocidade ao fim da diástole (ED)}}{\text{Velocidade do pico sistólico (PS)}}$$

$$PI = \frac{\text{Velocidade do pico sistólico (PS)} - \text{Velocidade ao fim da diástole (ED)}}{\text{Velocidade média de um ciclo cardíaco (TAMAX)}}$$

$$\text{Relação sístole / diástole} = \frac{\text{Velocidade do pico da sístole (PS)}}{\text{Velocidade ao fim da diástole (ED)}}$$

Figura 2 - Diagrama dos parâmetros de velocidade do fluxo sanguíneo utilizados para o cálculo dos índices hemodinâmicos



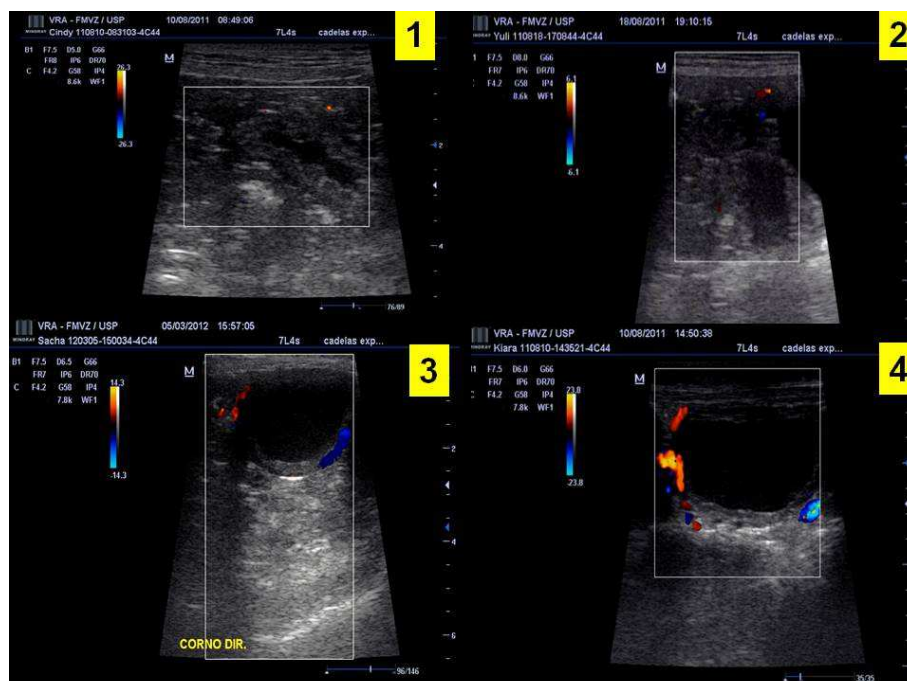
O volume da amostra foi posicionado no centro do vaso e o ângulo de insonação foi corrigido, não ultrapassando 60°. O total de 9 ondas estáveis de cada artéria uterina foi obtido para calcular a média de cada variável. A cada 3 ondas, os valores eram anotados e a média calculada. Desta maneira, as 3 médias obtidas, do

total de ondas, eram utilizadas para o cálculo de uma média final para cada parâmetro estudado.

4.3.3 Avaliação ultrasonográfica por Doppler colorido

Para a avaliação qualitativa da vascularização endometrial, o escaneamento dos cornos uterinos foi realizado, preferencialmente, em corte transversal no modo-B, seguido do Doppler colorido. Por se tratar de uma avaliação subjetiva, um escore de 1 a 4 foi adotado, sendo 1 considerado o grau mínimo e 4 o grau máximo de vascularização (Figura 3).

Figura 3 - Diferentes escores utilizados na avaliação qualitativa da vascularização endometrial através do modo Doppler colorido em corte transversal do útero. Escores de 1 a 4.



4.4 Procedimento cirúrgico e protocolo anestésico

As fêmeas do Grupo HEC-Mucometra foram apresentadas para OHE eletiva, enquanto que as fêmeas que constituíram o Grupo Endometrite-Piometra foram submetidas à cirurgia após a confirmação da afecção uterina por avaliação ultrasonográfica, laboratorial e sintomatologia clínica.

Previamente ao procedimento anestésico, as cadelas foram submetidas à fluidoterapia intravenosa com solução de NaCl a 0,9%. A acepromazina (0,03 mg/kg) e/ou meperidina (2,0 mg/kg) foram utilizadas como medicação pré-anestésica, sendo aplicadas 15 minutos antes da anestesia geral, por via intramuscular. Para a indução anestésica, utilizou-se o propofol (5,0 mg/kg) por via intravenosa. Após intubação oro-traqueal, os animais foram submetidos à oxigenioterapia e a manutenção anestésica foi realizada com isoflurano.

A OHE foi realizada por celiotomia abdominal na linha alba e a técnica clássica das três pinças foi eleita para todas as fêmeas. As ligaduras e suturas foram realizadas com fio não-absorvível do tipo náilon e a celiorrafia seguiu a ordem dos planos teciduais. Imediatamente após a histerectomia, o útero foi submetido à refrigeração a 5°C até o processamento.

A analgesia pós-operatória foi realizada com cloridrato de tramadol (2,0 mg/kg) por via intramuscular e/ou dipirona (25 mg/kg), administrada subcutaneamente. O antibiótico preferencialmente utilizado no pós-operatório foi a enrofloxacina (5 mg/kg), sendo este administrado por via subcutânea.

4.5 Avaliação histológica

Para a classificação das fêmeas nos grupos experimentais, imediatamente após o procedimento cirúrgico, fragmentos teciduais foram obtidos de cada corno uterino, especificamente da região cranial, bem como da região do corpo do útero. Os fragmentos foram lavados com solução fisiológica a 0,9%.

Para avaliação histológica, os fragmentos de 0,5 cm foram fixados em solução tamponada de formaldeído a 10% por 24 horas. Após este período, os

fragmentos foram incluídos em parafina após desidratação e diafanização (JUNQUEIRA, 1995).

Cortes histológicos de 5 µm foram submetidos à desparafinização seguindo o protocolo padrão. O corante de Hematoxilina-Eosina (HE) foi utilizado para avaliação do aspecto histomorfológico do útero, visualizado em microscopia óptica em aumento de 10 a 100X, possibilitando a diferenciação estrutural entre os tecidos.

As alterações histológicas foram caracterizadas por: tamanho e quantidade de cistos endometriais, presença de edema, focos de hemorragia, congestão vascular, aumento do tamanho e número das glândulas endometriais, espessura do endométrio, proliferação de fibroblastos, presença de células polimorfonucleares no lúmen das glândulas, no estroma endometrial e no miométrio, além da presença de abscesso, ulceração, metaplasia glandular e hiperplasia do miométrio (De Bosschere et al., 2001)

4.6 Valores hematológicos e bioquímicos de referência

Os valores de referência adotados foram aqueles utilizados no Serviço de Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (Tabelas 1, 2 e 3).

Tabela 1 – Valores de referência do eritrograma adotados pelo Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP. São Paulo, 2012

Eritrograma	Valor de referência
Hemácias	5,0 – 8,0 ($\times 10^6/\mu\text{L}$)
Hematócrito	37 – 54 (%)
Hemoglobina	12,0 - 18,0 (g/dL)
V.C.M	60,0 – 77,0 (fL)
H.C.M	22,0 – 27,0 (pg)
C.H.C.M.	31,0 – 36,0 (%)

Tabela 2 – Valores de referência do leucograma adotados pelo Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP. São Paulo. 2012

Leucograma	Valores de referência
Leucócitos	6.000 – 15.000 (mil/mm^3)
Bastonetes	0 – 1 (%)
Segmentados	55 – 88 (%)
Eosinófilos	1 – 9 (%)
Basófilos	0 – 1 (%)
Linfócitos	13 – 40 (%)
Monócitos	1 – 6 (%)

Tabela 3 – Valores de referência da bioquímica sérica adotados pelo Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP. São Paulo. 2012

Bioquímico	Valores de referência
Uréia	20 – 40 (mg/dL)*
Creatina	0,7 – 1,4 (g/dL)**
ALT	10 – 88
Fosfatase alcalina	20 – 150***

* dependência dieta, estado de hidratação.

**dependência massa muscular, estado de hidratação.

***dependência da idade.

4.7 Análise Estatística

Os dados foram analisados por meio do programa SAS System for Windows (SAS, 2000). O efeito dos grupos experimentais foi estimado pelo PROC GLM. De acordo com a normalidade dos resíduos (distribuição Gaussiana) e homogeneidade das variâncias, as diferenças entre tratamentos foram analisadas por meio de testes paramétricos (PROC GLM para cada fator isoladamente ou LSD para fatores combinados) e não-paramétricos (Wilcoxon). Sempre que necessário, os dados foram transformados com o objetivo de obedecer a premissas estatísticas.

As diferenças entre tratamentos foram analisadas utilizando o PROC NPAR1WAY para análise de variância não paramétrica. O tratamento foi verificado pelo teste de Kruskal-Wallis e pelo teste Wilcoxon para múltiplas comparações. As variáveis também foram submetidas à análise de correlação de Pearson.

Os resultados estão expressos como média e desvio padrão. O nível de significância adotado é de 5%, ou seja, as diferenças estatísticas entre as variáveis classificatórias para as variáveis respostas foram consideradas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS



5 RESULTADOS

Os resultados relacionados aos parâmetros vitais dos animais em cada grupo experimental serão expressos pelas médias e desvios padrão, enquanto os resultados laboratoriais hematológicos e bioquímicos, bem como os dados relativos à mensurações de diâmetro uterino, serão elucidados por seus valores absolutos. A avaliação histológica do útero será apresentada de maneira descritiva.

Considerando-se todos os grupos experimentais, a faixa etária dos animais variou de 2 a 13 anos de idade. A idade média no Grupo Controle foi de $4,3 \pm 1,87$ anos, $5,9 \pm 1,73$ anos no Grupo HEC-Mucometra e $9,59 \pm 2,60$ no Grupo Endometrite-Piometra. O peso corpóreo dos animais também variou entre os grupos, sendo 5 Kg o peso mínimo e 48 Kg o peso máximo, em função dos diferentes tipos raciais inclusos neste estudo (Quadro 2).

5.1 Avaliação clínica

A tabela 4 ilustra os valores médios dos parâmetros vitais e dos achados de exame físico relacionados à inspeção, palpação abdominal e presença de alterações sistêmicas. Em todos os grupos, os valores de frequência cardíaca (FC) foram semelhantes e dentro dos padrões de normalidade para a espécie. A frequência respiratória (FR) das cadelas dos Grupos Controle e HEC-Mucometra foram semelhantes, enquanto no Grupo Endometrite-Piometra, o número de movimentos respiratórios foi superior aos valores normais para a espécie. Da mesma forma, a temperatura corporal nas fêmeas do Grupo Endometrite-Piometra apresentou valores elevados em relação aos demais grupos. A alteração da coloração das mucosas foi evidenciada, principalmente em relação à mucosa ocular, a qual apresentou variação de normocorada à congesta nas fêmeas do Grupo Endometrite-Piometra. Em relação à palpação abdominal, sensibilidade leve a moderada foi notada no Grupo Endometrite-Piometra e as alterações sistêmicas observadas neste Grupo estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4 - Achados do exame físico, médias e desvios padrão dos parâmetros vitais obtidos previamente ao procedimento de ovariectomia em cadelas com e sem afecção uterina. São Paulo, 2012

Parâmetros	Grupos		
	Controle	HEC-Mucometra	Endometrite - Piometra
FC (bpm)	114,6 ± 4,61	114 ± 9,5	114 ± 6,0
FR (mpm)	24 ± 2,3	25 ± 2,3	> 30
Temperatura (°C)	38,4 ± 0,2	38,4 ± 0,35	38,8 ± 0,62
Mucosas	Normocoradas	Normocoradas	Normocoradas ou Congestas
Alterações sistêmicas	Ausentes	Ausentes	Leves* ou Severas**
Sensibilidade abdominal	Ausente	Ausente	Moderada a Severa

*anorexia, letargia

**anorexia, letargia, vômito, poliúria, polidipsia, toxemia e choque

A sintomatologia clínica, bem como o aspecto da secreção vaginal foi variável nas cadelas do Grupo Endometrite-Piometra. Neste último grupo, apenas 1 fêmea apresentava ingestão alimentar normal, sendo frequente o apetite seletivo ou anorexia há no mínimo 2 dias e no máximo 7 dias. Episódios eméticos, bem como poliúria e polidipsia foram sinais apresentados apenas em 41,6% das fêmeas. Em relação ao grau de hidratação, 67,3% das fêmeas encontravam-se levemente desidratadas quando apresentadas para o diagnóstico de infecção uterina.

Em relação aos exames laboratoriais, os resultados hematológicos e bioquímicos não se mostraram alterados nos Grupos Controle e HEC-Mucometra. Entretanto, no Grupo Endometrite-Piometra, a leucometria foi caracterizada por leucocitose com neutrofilia em todas as fêmeas, enquanto a associação de leucocitose com desvio à esquerda foi notória em 50% das fêmeas. Em relação ao

eritrograma, 50% das fêmeas apresentaram anemia normocítica normocrômica. Apenas 1 fêmea apresentou disfunção renal, e outra fêmea apresentou aumento da concentração da enzima hepática ALT. Por outro lado, do total de fêmeas do Grupo Endometrite-Piometra, 7 apresentaram valores superiores ao normal da enzima hepática FA. Os valores absolutos para cada variável hematológica estão descritos na tabela 5.

Tabela 5 – Valores absolutos dos exames hematológicos e bioquímicos previamente ao procedimento de ovariosterectomia, realizados em cadelas do Grupo Endometrite-Piometra. São Paulo, 2012

Animal	Hemácias (x10 ⁶ /µL)	Hemat. (%)	Hemog. (g/dL)	Leuco. (mil/mm ³)	Bast. (%)	Segment. (%)	Creatinina (g/dL)	Uréia (g/dL)	ALT	FA
17	4,5	30	10,1	31.200	0	89	0,78	86	26	74
18	4,42	33	10	19.800	17	70	0,6	35	15	207
19	6,1	40	13,6	28.00	0	80	0,34	38	31	290
20	5,8	39	12,8	23.900	2	83	0,87	47	10	107
21	7,6	48	16,1	16.300	0	81	0,61	26	5	240
22	6,3	39	13,3	67.200	3	73	0,8	13	136	182
23	3,2	23,7	8,3	10.600	0	82	0,95	18	20	132
24	5,3	37	12,2	61.800	5	90	0,87	120	9	232
25	5,0	36,1	11,5	22.400	0	78	1,65	138	36	514
26	6,3	44	15,3	34.600	0	78	0,84	34,6	12,4	95,6
27	4,4	31	9,5	33.800	18	73	0,89	33	15	124
28	4,6	32	11,6	44.800	5	80	0,8	7	20	190

Hemat – hematócrito; Leuco – leucócitos; Bast. – bastonetes; Segment. – segmentados; ALT – alanina transaminase; FA – fosfatase alcalina

5.2 Avaliação ultra-sonográfica bidimensional

Por meio do exame ultrasonográfico bidimensional, foi possível evidenciar, em todas as cadelas, a presença ou ausência de conteúdo intra-uterino, variação na espessura da parede uterina e a distensão do útero (Figura 4). Tais alterações foram confirmadas pela avaliação macroscópica do útero (Figura 5). As mensurações ultrasonográficas do corpo e cornos uterinos realizadas em corte transversal estão demonstradas na Tabela 6. Para melhor avaliação de tais dados e caracterizar o aumento das medidas consideradas, o peso das fêmeas foi levado em consideração.

Figura 4 – Imagem ultrasonográfica no modo-B. Corte transversal do corno uterino do animal 7. Evidente hiperplasia endometrial (setas brancas) e conteúdo intra-luminal (seta vermelha)

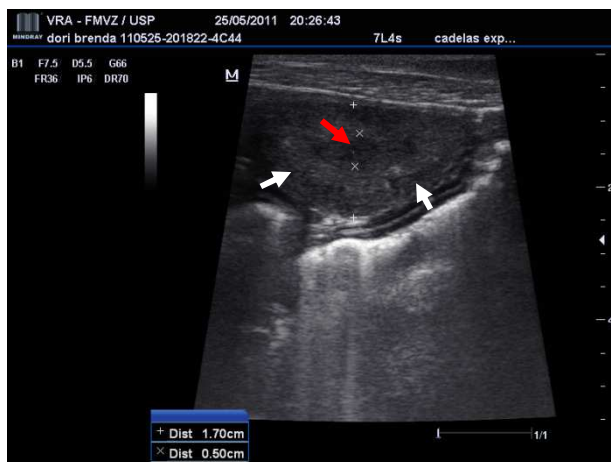


Figura 5 – Aspecto macroscópico, compatíveis com os achados ultra-sonográficos do corno uterino do animal 7. E – endométrio; C – conteúdo intra-luminal

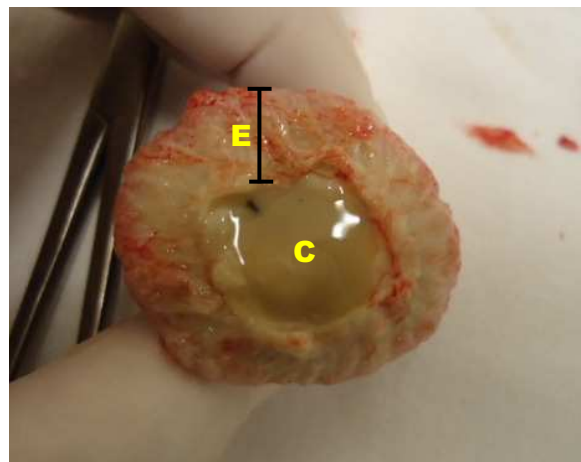


Tabela 6 – Mensurações uterinas, realizadas em corte transversal de cadelas com e sem afecção uterina. São Paulo, 2012

Animal	Classificação	LCUe (cm)	LCUd (cm)	EPCUe (cm)	EPCUd (cm)	DTCUe (cm)	DTCUd (cm)	Corpo uterino (cm)	Peso (Kg)
1	Controle	0,26	0,21	0,14	0,12	0,62	0,4	0,4	7
2	Controle	0,2	0,19	0,13	0,1	0,41	0,33	0,45	15
3	Controle	0,3	0,22	0,2	0,15	0,79	0,55	0,52	30
4	Controle	0,32	0,37	0,24	0,26	0,63	0,72	0,6	28
5	Controle	0,2	0,3	0,3	0,16	0,63	0,71	0,6	25
6	Controle	0,58	0,6	0,21	0,23	0,9	0,99	0,74	6
7	HEC-Mucometra	0,34	0,82	0,69	0,87	2	2,46	0,63	18
8	HEC-Mucometra	0,8	0,59	0,12	0,19	0,99	0,83	0,46	6,5
9	HEC-Mucometra	0,14	0,17	0,3	0,44	0,89	0,93	0,9	48
10	HEC-Mucometra	0,51	0,43	0,18	0,14	0,87	0,83	0,54	25
11	HEC-Mucometra	0,4	0,37	0,06	0,06	0,36	0,48	0,55	11
12	HEC-Mucometra	0,9	0,89	0,18	0,22	1,24	1,16	0,9	5
13	HEC-Mucometra	0,62	0,58	0,16	0,09	0,89	0,77	0,51	5
14	HEC-Mucometra	0,52	0,38	0,19	0,13	0,79	0,59	0,32	7
15	HEC-Mucometra	0,19	0,38	0,1	0,12	0,35	0,6	0,3	10
16	HEC-Mucometra	0,42	0,28	0,19	0,21	0,83	0,7	0,55	6
17	Endometrite-Piometra	2,18	0,86	0,56	0,39	3,08	1,51	1,06	36
18	Endometrite-Piometra	2,1	2,47	0,43	0,3	2,99	3,26	2,75	20

Animal	Classificação	LCUe (cm)	LCUd (cm)	EPCUe (cm)	EPCUd (cm)	DTCUe (cm)	DTCUd (cm)	Corpo uterino (cm)	Peso (Kg)
19	Endometrite-Piometra	0,3	0,23	0,4	0,51	1,21	1,22	0,84	12
20	Endometrite-Piometra	2,76	2,3	0,32	0,46	3,47	3,16	0,73	25
21	Endometrite-Piometra	4,49	3,45	0,24	0,25	4,86	3,9	1,7	50
22	Endometrite-Piometra	0,58	0,48	0,54	0,44	1,7	1,47	1,23	14
23	Endometrite-Piometra	2,55	2,46	0,54	0,49	4,29	3,26	2,15	23
24	Endometrite-Piometra	3,15	3,01	0,47	0,45	4,29	3,59	3	29,6
25	Endometrite-Piometra	2,19	1,68	0,79	0,37	3,3	2,31	1,87	6
26	Endometrite-Piometra	1,12	1,03	0,59	0,46	2,26	2,05	1,12	29,4
27	Endometrite-Piometra	2,57	2,53	0,41	0,36	2,8	3,29	2,03	25
28	Endometrite-Piometra	2,28	3,97	0,34	0,48	2,8	4,48	1,89	21

DTCUe – diâmetro do corno uterino esquerdo; EPCUe – espessura da parede do corno uterino esquerdo; DTCUd – diâmetro do corno uterino direito; EPCUd – espessura da parede do corno uterino direito.

*de acordo com os achados clínicos, ultra-sonográficos, aspectos macro e microscópicos do útero

5.3 Avaliação ultrasonográfica por Doppler espectral

Em todos os grupos estudados, não houve diferença estatística na velocidade do fluxo sanguíneo entre as artérias uterinas direita e esquerda. Por outro lado, a velocidade do fluxo sanguíneo apresentou variação significativa entre os grupos ($p < 0,05$) (Tabela 7). Não houve diferença da velocidade do pico sistólico (PS) entre os Grupos Controle e HEC-Mucometra, entretanto tal variável foi significativamente superior no Grupo Endometrite-Piometra. Em relação à velocidade ao fim da diástole (ED) e o tempo médio de aceleração (TAMAX), houve diferença estatística entre os grupos, sendo os valores no Grupo Endometrite-Piometra superior aos valores no Grupo HEC-Mucometra e Controle.

Tabela 7 – Médias e desvios padrão da velocidade do fluxo sanguíneo das artérias uterinas nos distintos grupos experimentais. São Paulo, 2012

Parâmetros	PS (cm/s)	ED (cm/s)	TAMAX (cm/s)
Controle	47,30 ± 2,63 ^b	1,29 ± 0,54 ^c	8,47 ± 1,13 ^c
HEC-Mucometra	60,80 ± 4,50 ^b	9,76 ± 0,77 ^b	20,47 ± 0,12 ^b
Endometrite-Piometra	86,72 ± 6,35 ^a	33,34 ± 3,02 ^a	48,34 ± 4,14 ^a

^{a,b,c} Entre grupos significa diferença estatística ($p < 0,05$).

PS – velocidade máxima do pico da sístole; ED – velocidade ao fim da diástole; TAMAX – tempo médio da velocidade máxima de um ciclo cardíaco.

Da mesma forma que os parâmetros de velocidade do fluxo, para os índices hemodinâmicos (S/D, RI e PI), houve diferença significativa na comparação entre os grupos. No Grupo Controle, os índices foram significativamente superiores em relação aos grupos com afecção uterina. A variação dos índices entre os grupos está representada sob a forma de gráficos (Figuras 6, 7 e 8).

Figura 6 – Velocidade do pico da sístole : velocidade do pico da diástole (S/D) nos grupos controle e com afecção uterina. ^{a,b,c} entre grupos significam diferença estatística em $p < 0,0001$

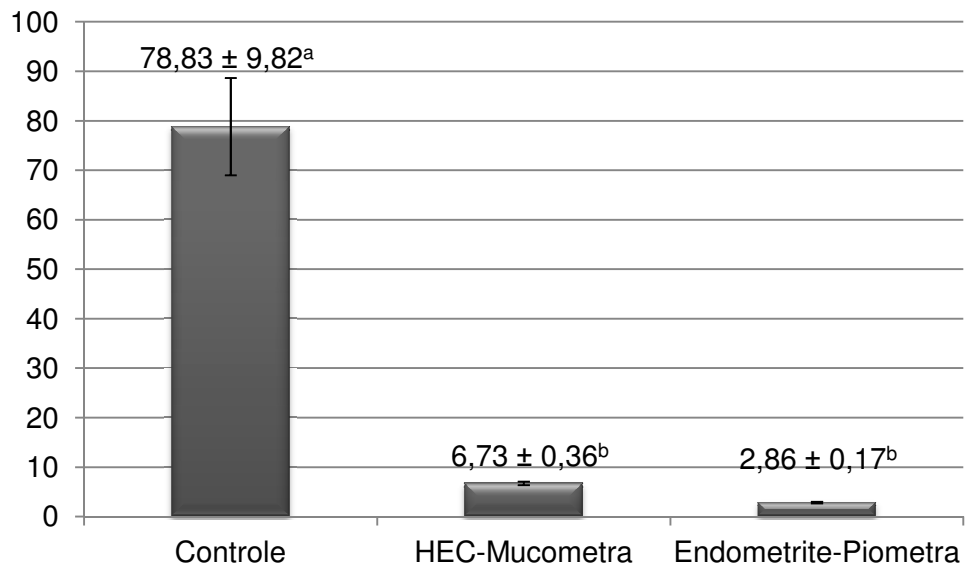


Figura 7 – Índice de Resistência Vascular (RI) nos grupos controle e com afecção uterina. ^{a,b,c} entre grupos significam diferença estatística em $p < 0,0001$

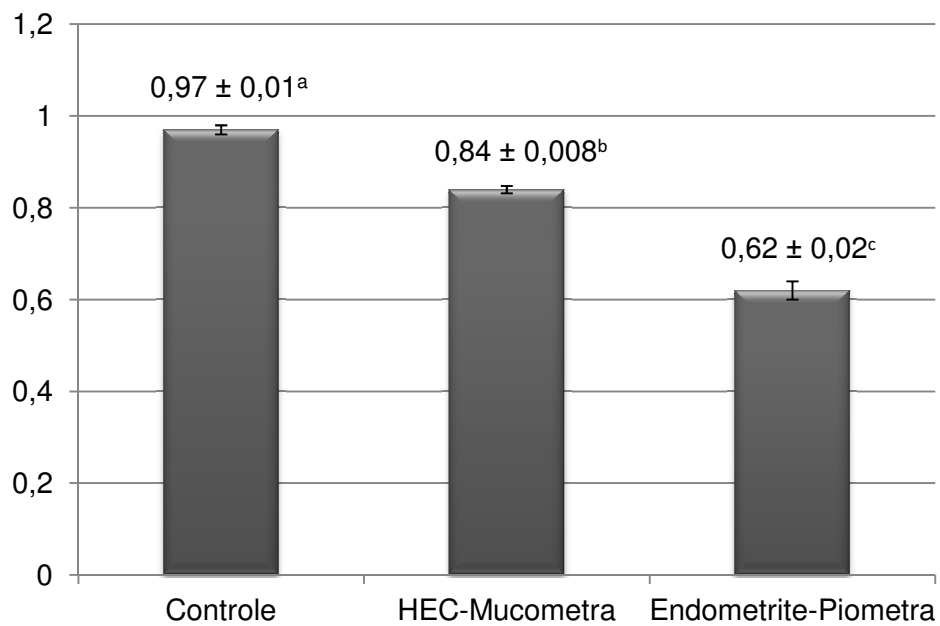
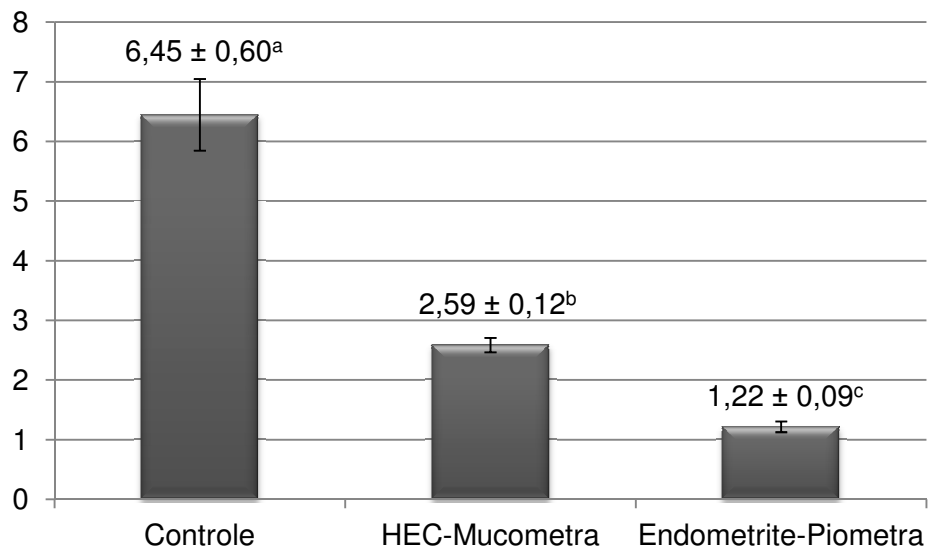


Figura 8 – Índice Pulsatilidade (PI) nos grupos controle e com afecção uterina. a,b,c entre grupos significam diferença estatística em $p < 0,0001$



Em razão das diferenças dos valores de RI e PI entre os grupos, a forma da onda também apresentou variação em relação ao padrão do fluxo sanguíneo. No Grupo Controle, a forma da onda apresentou um padrão de fluxo de alta resistência, caracterizado pela diminuição brusca da velocidade do pico sistólico ou presença de um fluxo reverso (Figuras 9 e 10).

Figura 9 – Onda de alta resistência no Grupo Controle. Nota-se a diminuição brusca da velocidade do pico sistólico (seta)

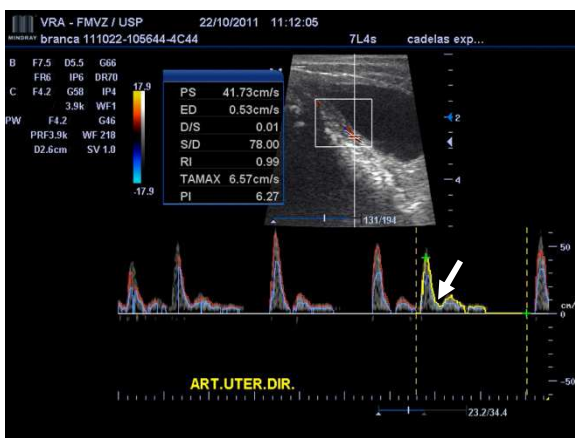
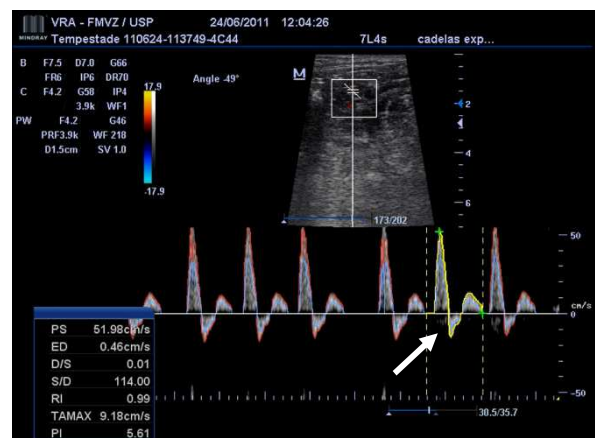


Figura 10 – Onda de alta resistência no Grupo Controle. Nota-se a presença de fluxo reverso (seta)



No Grupo HEC-Mucometra, o fluxo sanguíneo também foi caracterizado como de alta resistência, porém com pulsatilidade inferior ao Grupo Controle em razão da velocidade aumentada durante o PS e ED (Figura 11). Entretanto, não ocorreu no referido grupo a formação de ondas com fluxo reverso. Na Endometrite-Piometra, os elevados valores de PS e ED e, por conseguinte, os baixos índices de RI, PI e S/D caracterizaram um fluxo contínuo, de alta velocidade e baixa resistência (Figura 12).

Figura 11 – Onda de alta resistência e baixa pulsatilidade no Grupo HEC-Mucometra

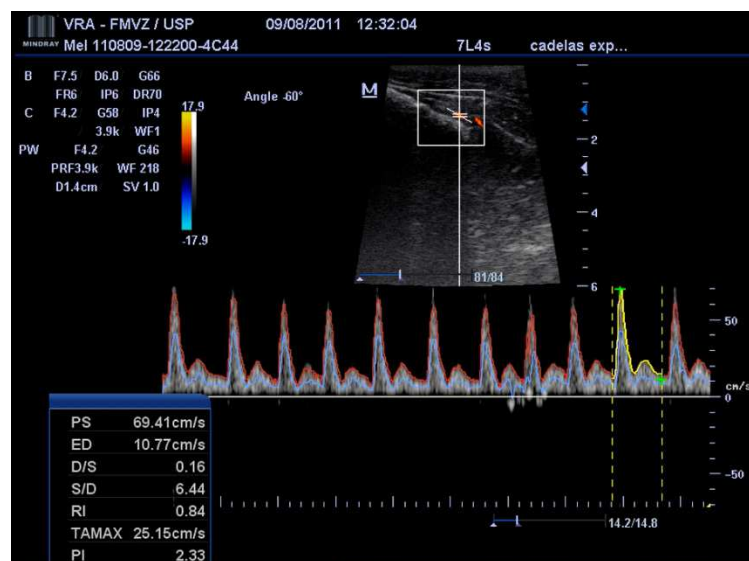
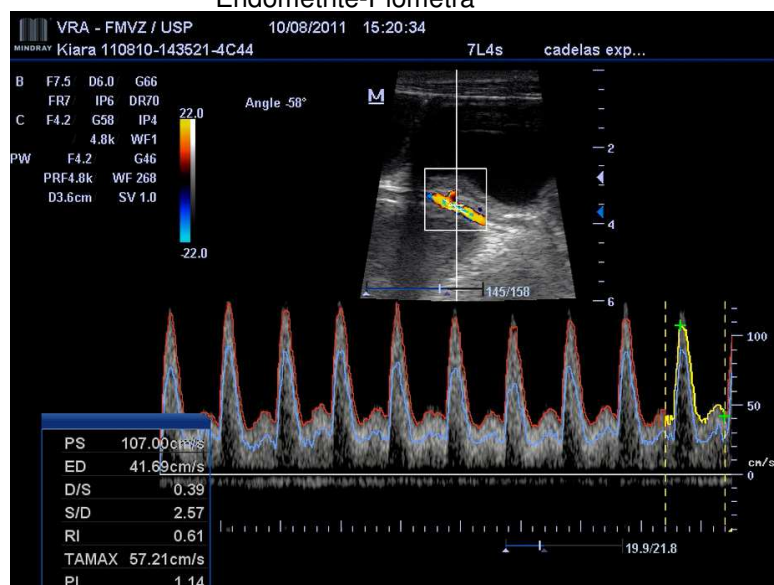


Figura 12 – Onda de alta velocidade de fluxo, baixa resistência e pulsatilidade no Grupo Endometrite-Piometra



5.4 Avaliação ultrasonográfica por Doppler colorido

Em relação à avaliação quantitativa da vascularização endometrial, o escore variou de 1 a 4 entre os grupos. As notas mínimas e máximas adotadas para cada grupo estão descritas na Tabela 8.

Tabela 8 – Escore de vascularização endometrial realizado pelo modo Doppler colorido em cadelas com e sem afecção uterina. São Paulo, 2012

Grupo	Controle	HEC-Mucometra	Endometrite-Piometra
Mínimo	1	1	2
Máximo	1	2	4

5.5 Avaliação macroscópica e histológica

A avaliação histológica dos tecidos uterinos seguiu o padrão de caracterização das alterações descrito por De Bosschere et al. (2001). A ausência de cistos e a reação inflamatória foram consideradas características do Grupo Controle. A avaliação macroscópica do útero neste Grupo revelou espessamento do endométrio (Figura 13-A), enquanto à avaliação histológica evidenciou-se espessamento da mucosa, presença de discreto edema intersticial, algumas glândulas sinuosas e ausência de conteúdo (Figura 13-B). No Grupo HEC-Mucometra, a hiperplasia endometrial era evidente, além da presença de cistos na superfície da mucosa. Em algumas cadelas, a presença de conteúdo uterino seroso ou mucoso também foi evidenciada (Figura 14-A). No tocante à avaliação microscópica da HEC-Mucometra, algumas fêmeas foram classificadas com HEC-moderada quando havia cistos pequenos e em pequena quantidade, com células epiteliais achatadas e ausência de alterações no estroma (Figura 14-B). Nas fêmeas com HEC-severa, quando os cistos eram grandes e em grande quantidade, as glândulas endometriais encontravam-se aumentadas de tamanho e em maior

número, presença de congestão vascular e focos hemorrágicos, bem como atrofia da lâmina própria do endométrio. Já na HEC-Mucometra, as principais alterações observadas foram atrofia do endométrio, ausência de tecido glandular e presença de muco no lúmen uterino. É importante ressaltar que embora a classificação histológica apresentasse a subdivisão para a HEC-Mucometra, no presente estudo, as 3 formas constituíram o mesmo grupo.

As fêmeas do Grupo Endometrite-Piometra apresentavam à macroscopia o útero distendido, ora com espessamento significativo do endométrio com glândulas tortuosas e presença de cistos (Figura 15-A), ora com adelgaçamento endometrial (Figura 15-B), além de conteúdo intrauterino sanguíneo ou purulento. À microscopia, a endometrite foi caracterizada por cistos pequenos, grandes ou ausentes, proliferação de fibroblastos, edema estromal, bem como infiltrado de células inflamatórias como neutrófilos, plasmócitos e linfócitos (Figura 16). Histologicamente, a piometra foi classificada como hiperplásica ou atrófica no presente estudo. A piometra hiperplásica apresentou cistos grandes, com proliferação moderada de fibroblastos, infiltrado inflamatório em proporções variadas no lúmen uterino, glândulas endometriais e estroma do endométrio e miométrio. Ocasionalmente, observou-se a presença de necrose, ulceração (Figura 17-A), hemorragia e abscesso nas glândulas endometriais (Figura 17-B), além de metaplasia escamosa na superfície endometrial (Figura 18). Por outro lado, a piometra atrófica (Figura 19) foi caracterizada por reação inflamatória exacerbada no miométrio e endométrio, atrofia do endométrio, redução do estroma, hiperplasia do miométrio, além de ulcerações, edema e congestão.

Figura 13 – Hiperplasia endometrial no diestro (Grupo Controle). A – Aspecto macroscópico: endométrio hiperplasiado (seta) e ausência de secreção no lúmen uterino. B – Fotomicrografia do útero em diestro (Grupo Controle): espessamento da mucosa, presença de discreto edema intersticial e algumas glândulas sinuosas (seta). H.E. – 50x

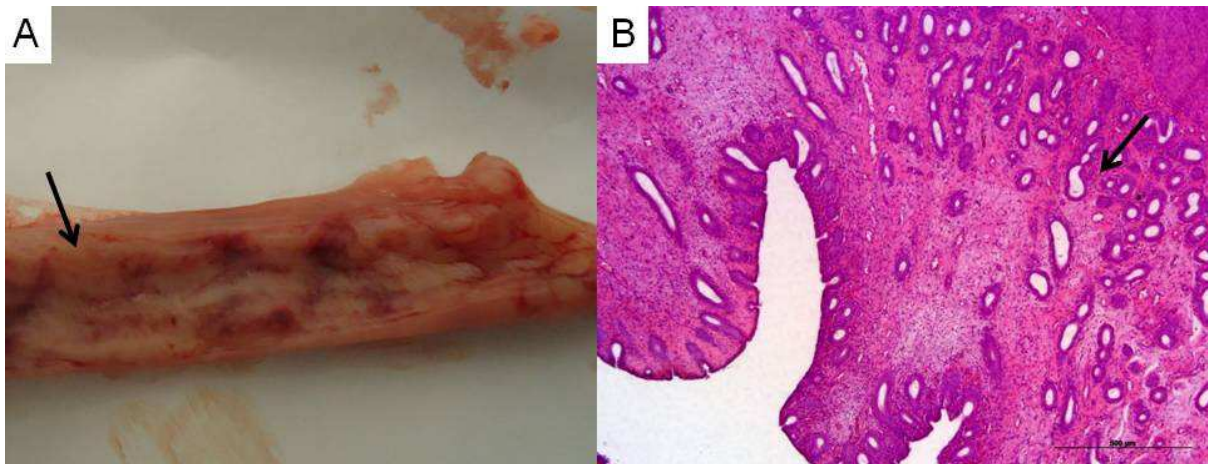


Figura 14 – HEC-Mucometra. A – Aspecto macroscópico: endométrio hiperplasiado, presença de estrutura cística (seta preta) e conteúdo intra-uterino (seta amarela). B – Fotomicrografia da HEC-Mucometra: cistos pequenos e em pequena quantidade, com células epiteliais achatadas, ausência de alteração estromal e conteúdo hialino no lúmen glandular (seta preta). Presença de pequenos focos hemorrágicos. H.E. – 100x

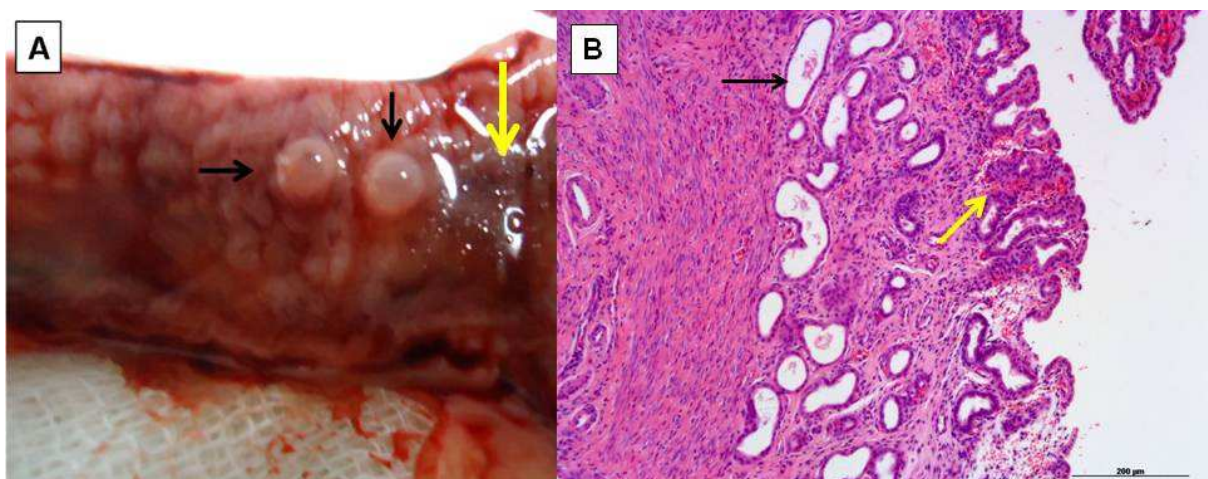


Figura 15 – Piometra hiperplásica (A) – espessamento endometrial (seta preta) e conteúdo intrauterino pio-sanguíneo (seta amarela). Piometra atrófica (B) – endométrio atrofiado (seta preta) e conteúdo intra-uterino purulento (seta amarela)

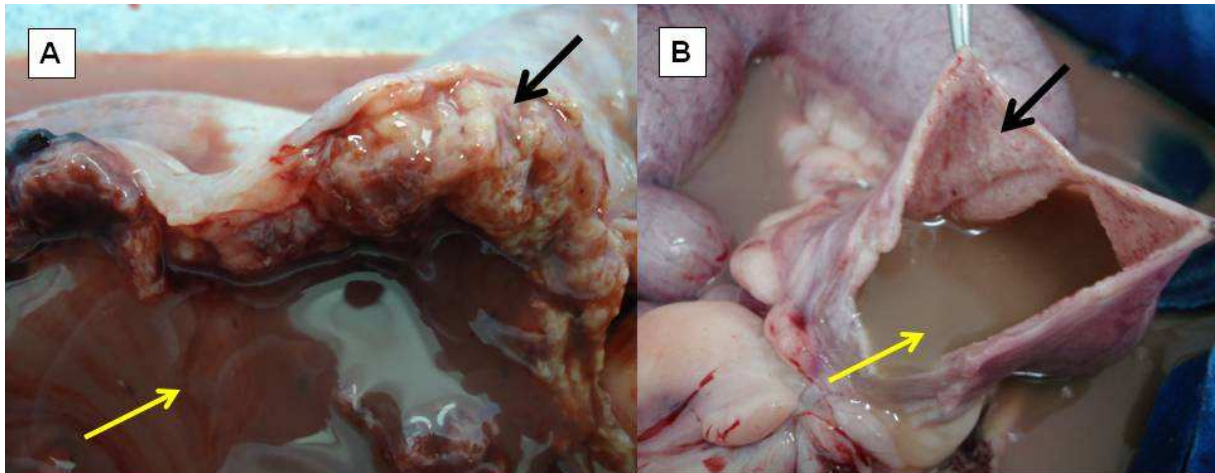


Figura 16 – Fotomicrografia de Endometrite – células mononucleares, principalmente linfócitos, em grande quantidade no estroma endometrial. H.E. – 200x

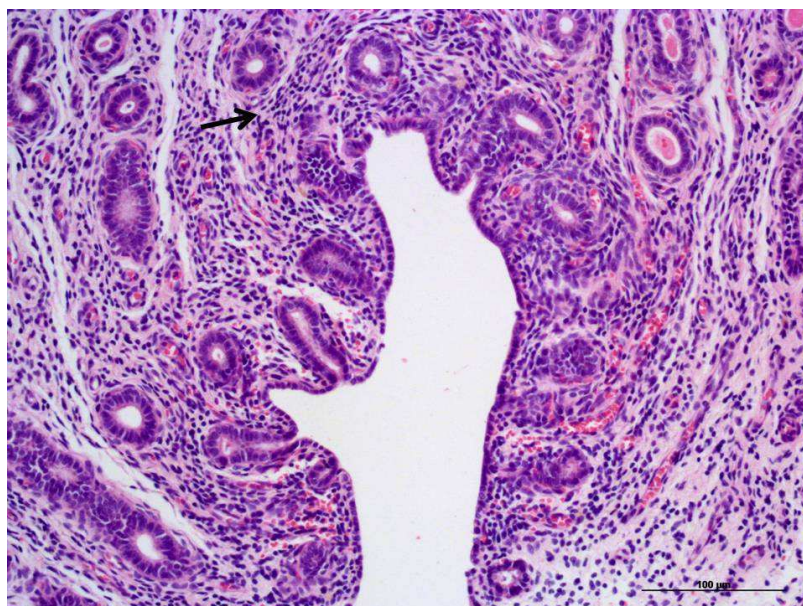


Figura 17 – Piometra hiperplásica. A – Fotomicrografia de ulceração com debris celulares no lúmen uterino (seta). H.E. 100x. B – abscesso glandular (seta). H.E. 200x

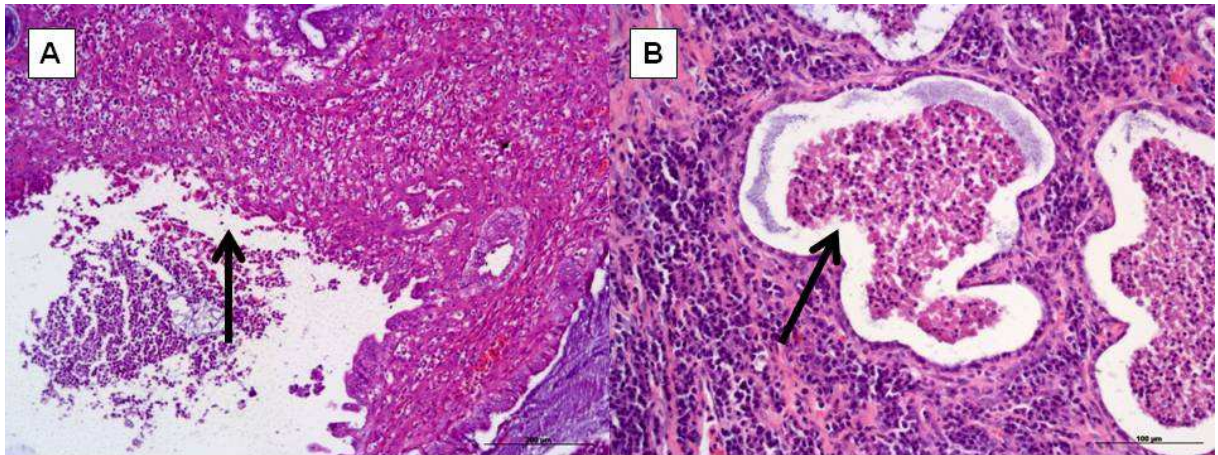


Figura 18 – Fotomicrografia de metaplasia escamosa da superfície endometrial (seta). H.E. 200x

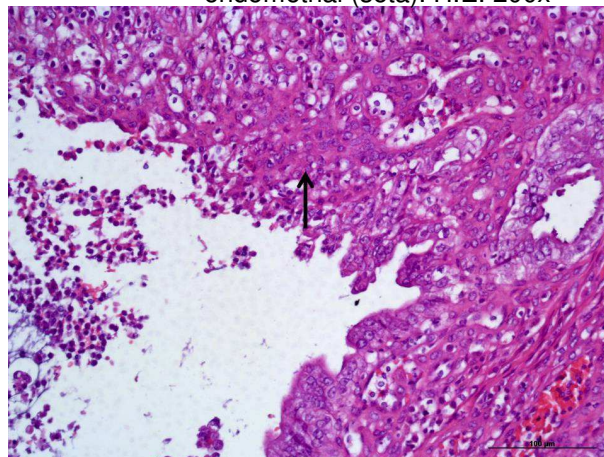
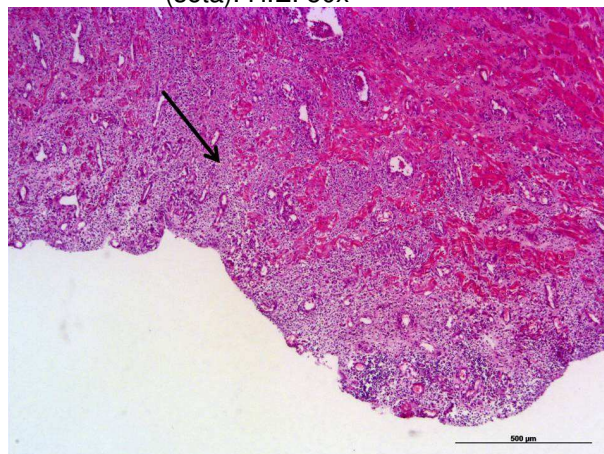


Figura 19 – Fotomicrografia de piometra atrófica. Ausência de glândulas endometriais (seta). H.E. 50x



5.6 Testes de correlação

No Grupo HEC-Mucometra, os índices hemodinâmicos RI, PI e S/D apresentaram correlação positiva com as variáveis: contagem de hemácias, hemoglobina e hematócrito. (Tabela 9).

Com relação ao Grupo Endometrite-Piometra, as variáveis contagem de hemácias, hemoglobina e hematócrito apresentaram correlação negativa com os parâmetros de velocidade de fluxo sanguíneo, exceto a variável hematócrito que não apresentou correlação com o ED e TAMAX. Ainda, foi estabelecida correlação negativa entre o número de bastonetes e os índices hemodinâmicos; e correlação positiva entre os bastonetes e o escore de vascularização endometrial no Grupo Endometrite-Piometra (Tabela 10).

Na análise de correlação considerando-se todos os grupos, as medidas de espessura uterina (EPCU e DTCU) e a contagem de leucócitos totais correlacionaram-se negativamente com os índices hemodinâmicos. Para as variáveis da série vermelha do sangue, houve correlação positiva com os índices hemodinâmicos (Tabela 11).

Tabela 9 - Coeficiente de correlação e de significância das variáveis contagem de hemácia, hematócrito, hemoglobina, RI, PI e S/D no Grupo HEC-Mucometra - São Paulo – 2012

	Hemácia	Hemoglobina	Hematócrito	RI	PI	S/D
Hemácia	1.00000	0.83683 0.0049	0.97029 <0.0001	0.62467 0.0056	0.57189 0.0131	0.63095 0.0050
Hemoglobina		1.00000	0.83063 0.0056	0.47883 0.0444	0.50623 0.0321	0.51426 0.0290
Hematócrito			1.00000	0.52317 0.0259	0.49800 0.0354	0.56102 0.0154
RI				1.00000	0.80655 <0.0001	0.98221 <0.0001
PI					1.00000	0.81384 <0.0001
S/D						1.00000

RI – índice de resistência; PI – índice de pulsatilidade; S/D – relação sistole-diástole.

Tabela 10 - Coeficiente de correlação e de significância das variáveis contagem de hemácias, hematócrito, hemoglobina, número de bastonete, PS, ED, TAMAX, RI, PI e S/D no Grupo Endometrite-Piometra - São Paulo – 2012

	He	Hemog.	Hemat.	Bast.	Escore	OS	ED	TAMAX	RI	PI	S/D
He.	1.00000	0.97023 <0.0001	0.92982 <0.0001	-0.33342 0.2896	-0.08184 0.7038	-0.55896 0.0045	-0.45590 0.0252	-0.54062 0.0064	0.22456 0.2915	0.21145 0.3213	0.22800 0.2839
Hemog.		1.00000	0.94921 <0.0001	-0.35902 0.2518	-0.21009 0.3245	-0.53182 0.0075	-0.40977 0.0467	-0.49695 0.0135	0.19926 0.3506	0.18229 0.3939	0.20493 0.3368
Hemat.			1.00000	-0.27723 0.3830	-0.00585 0.9784	-0.44455 0.0295	-0.30481 0.1475	-0.39738 0.0545	0.10155 0.6368	0.07471 0.7286	0.10745 0.6173
Bast.				1.00000	0.61378 0.0014	0.14081 0.5116	0.42242 0.0397	0.29840 0.1567	-0.67816 0.0003	-0.64697 0.0006	-0.66502 0.0004
Escore					1.00000	0.10380 0.6293	0.20469 0.3373	0.16298 0.4467	-0.33986 0.1042	-0.34453 0.0992	-0.32845 0.1171
PS						1.00000	0.78435 <0.0001	0.91391 <0.0001	-0.13554 0.5277	-0.22749 0.2850	-0.15743 0.4626
ED							1.00000	0.95304 <0.0001	-0.58531 0.0027	-0.64898 0.0006	-0.60752 0.0016
TAMAX								1.00000	-0.41142 0.0458	-0.48369 0.0166	-0.43270 0.0347
RI									1.00000	0.98605 <0.0001	0.99346 <0.0001
PI										1.00000	0.97955 <0.0001
S/D											1.00000

He – hemácias, Hemog. – hemoglobina; Ht – hematócrito; Bast. Bastonete; PS – velocidade no pico da sistole; ED – velocidade ao fim da diástole; TAMAX – velocidade média de um ciclo cardíaco; RI – índice de resistência; PI – índice de pulsatilidade; S/D – relação sistole-diástole

Tabela 11 - Coeficiente de correlação e de significância das variáveis número de hemácias, hematócrito, hemoglobina, contagem de leucócitos, EPCU, DTCU, RI, PI e S/D nos Grupos Controle, HEC-Mucometra e Endometrite-Piometra - São Paulo – 2012

	Hemácias	Hemoglobina	Hematócrito	Leucócitos	EPCU	DTCU	RI	PI	S/D
Hemácias	1.00000	0.83683 0.0049	0.97029 <0.0001	0.30963 0.4175	-0.05094 0.7310	-0.16639 0.2583	0.34685 0.0157	0.35303 0.0138	0.35230 0.0141
Hemoglobina		1.00000	0.83063 0.0056	0.56667 0.1116	-0.00343 0.9816	-0.14039 0.3412	0.34239 0.0172	0.35026 0.0147	0.35273 0.0139
Hematócrito			1.00000	0.35598 0.3471	-0.08767 0.5535	-0.17033 0.2471	0.35662 0.0128	0.35578 0.0131	0.36599 0.0105
Leucócitos				1.00000	0.68032 <0.0001	0.71003 <0.0001	-0.72316 <0.0001	-0.70701 <0.0001	-0.71401 <0.0001
EPCU					1.00000	0.77353 <0.0001	-0.54489 <0.0001	-0.51669 <0.0001	-0.53898 <0.0001
DTCU						1.00000	-0.73691 <0.0001	-0.70646 <0.0001	-0.72822 <0.0001
RI							1.00000	0.98266 <0.0001	0.99543 <0.0001
PI								1.00000	0.97994 <0.0001
S/D									1.00000

EPCU – espessura do corno uterino; DTCU – diâmetro total do corno uterino; RI – índice de resistência; PI – índice de pulsatilidade; S/D – relação sistole-diástole

DISCUSSÃO



6 DISCUSSÃO

Com o avanço das técnicas de reprodução assistida, a ginecologia e obstetrícia passaram a ser áreas de atuação voltadas precipuamente para o diagnóstico precoce de alterações que possam comprometer, de maneira irreversível, a *performance* reprodutiva das cadelas. As afecções uterinas, atualmente, são consideradas o foco das atenções de pesquisadores que buscam entender os mecanismos envolvidos em sua fisiopatogenia, para que terapias medicamentosas possam ser aplicadas com eficiência. Ademais, com o objetivo de avaliar o grau das alterações e, por conseguinte, prever o prognóstico, bem como a eficácia do tratamento clínico, novas técnicas de diagnóstico estão sendo instituídas, particularmente na espécie canina.

6.1 Avaliação clínica e laboratorial

A HEC-Piometra é uma afecção de incidência elevada, diagnosticada em 25% das cadelas com idade entre 6 e 10 anos (EGENVALL et al., 2001). Estudos de Dow (1957) demonstram que a HEC-mucometra é uma doença característica de cadelas jovens, com idade média de $7,6 \pm 2,2$ anos, enquanto a endometrite e a piometra são comuns em cadelas idosas, com idade superior a 8 anos. Contraditoriamente, De Bosschere et al. (2001) elucidaram que a HEC-mucometra e a endometrite-piometra ocorrem de forma semelhante em cadelas, independente da idade. No presente estudo, a faixa etária dos animais foi semelhante, em consonância com os achados de De Bosschere et al. (2001), uma vez que tanto fêmeas jovens quanto idosas foram diagnosticadas com endometrite. Outrossim, a HEC-mucometra também foi evidenciada em três fêmeas idosas (Quadro 2).

Estudos demonstram que a endotoxemia é responsável pelas alterações sistêmicas em cadelas com endometrite-piometra e as concentrações plasmáticas da endotoxina estão diretamente relacionadas à evolução desfavorável da doença (WESSELS; WELLS, 1989; OKANO et al., 1998; FRANSSON et al., 1997). Os resultados do presente estudo enfatizam as alterações sistêmicas nas fêmeas com

infecção uterina, principalmente o aumento da frequência respiratória e a manifestação de sinais clínicos, tais como mucosa ocular congesta, anorexia, poliúria, polidipsia e vômito. As endotoxinas são capazes de estimular o centro respiratório e, por conseguinte, induzir à hiperventilação seguida de alcalose respiratória com compensação metabólica (GREENFIELD, 1981). Por outro lado, a taquipnéia em cadelas com Endometrite-Piometra também pode ser justificada pela presença de sensibilidade abdominal como consequência da distensão uterina.

Segundo dados da literatura, aproximadamente 62% das fêmeas com piometra apresentam alterações hematológicas decorrentes do processo inflamatório crônico, caracterizadas por anemia de caráter normocítico normocrômico e não-regenerativo, resultante da perda de eritrócitos para o lúmen uterino e, ainda, depressão tóxica da eritropoiese (WIKES; OLSON, 1996; FOSSUM et al., 1997; NELSON e FELDMAN, 1996). Em 1980, Borresen demonstrou que valores de hematócrito abaixo de 34% ocorrem em um pequeno número de animais com diagnóstico de piometra, enquanto valores entre 39% e 44% são comumente encontrados. Em contraposição ao referido pesquisador, os resultados obtidos em nosso estudo demonstram que a ocorrência de valores de hematócrito abaixo de 34% é significativa e evidenciada em aproximadamente 50% das fêmeas do Grupo Endometrite-Piometra.

6.2 Avaliação ultrasonográfica por Doppler espectral

Desde 1970, a ultrasonografia Doppler passou a ser empregada na reprodução de pequenos animais como uma ferramenta para monitoração do fluxo sanguíneo placentário e batimento cardíaco fetal (HELPER, 1970). Desde então, a utilização do Doppler estendeu-se para a avaliação da perfusão ovariana durante o ciclo estral, perfusão uterina durante o diestro e anestro, bem como para a monitoração da gestação em gatas (KÖSTER; NAUTRUP, 2001; ALVAREZ-CLAU; LISTE, 2005; SCOTTI et al., 2008). Independente do órgão ou tecido, a ultrasonografia Doppler avalia o fluxo sanguíneo por meio de três diferentes parâmetros: forma da onda de velocidade de fluxo (espectro de velocidade de fluxo no Doppler), valores dos índices hemodinâmicos e de velocidade do fluxo, além da

avaliação por meio da intensidade de cores (BLANCO et al., 2008). Em Medicina Veterinária, o presente estudo pode ser considerado pioneiro, pois caracteriza, mediante a ultrasonografia Doppler, o fluxo sanguíneo em processos patológicos uterinos na espécie canina.

A inflamação induzida pelo processo infeccioso é fundamental para a remoção do estímulo lesivo, bem como para a reparação da injúria tecidual (HICKEY, 2001). A resposta inflamatória aguda evolui a partir de uma fase inicial vascular, imediatamente após a instalação do agente, e envolve basicamente a microcirculação, culminando em vasodilatação local e aumento da permeabilidade com conseqüente formação de transudato e posteriormente exsudato (MESQUITA JR. et al., 2008). Em nosso estudo, a anemia presente nas fêmeas do Grupo Endometrite-Piometra e, por conseguinte, a diminuição da série vermelha do sangue foi acompanhada e correlacionada negativamente pelo aumento dos parâmetros de velocidade do fluxo sanguíneo. Diante da inflamação e infecção uterina, tais resultados exprimem os mecanismos compensatórios do organismo que culminam em aumento do débito cardíaco e aumento da perfusão tecidual, na tentativa de melhorar a disponibilidade local de componentes celulares e humorais, responsáveis pela eliminação do agente agressor. Ademais, a correlação positiva entre a série vermelha do sangue e os índices hemodinâmicos no Grupo HEC-Mucometra denota que na ausência de inflamação uterina e em cadelas clinicamente saudáveis, a perfusão uterina está significativamente diminuída. Contudo, a diferença significativa entre os índices hemodinâmicos nos Grupos Controle e HEC-Mucometra ilustra a importância da ultrasonografia Doppler no diagnóstico diferencial do processo fisiológico e patológico na ausência de inflamação durante o diestro (hiperplasia endometrial e mucometra). Desta maneira, sugere-se que as fêmeas com diagnóstico de HEC-Mucometra sejam monitoradas com a ultrasonografia Doppler durante o período de dominância progestacional. Tais fêmeas poderão ser beneficiadas à eventual evolução da afecção para Endometrite-Piometra, pois o tratamento da inflamação e infecção poderá ser precocemente instituído e, por conseguinte, o desenvolvimento de alterações sistêmicas poderá ser evitado.

Em condições normais de fluxo vascular, as células sanguíneas concentram-se no centro do vaso, local de menor resistência de fluxo contra o endotélio vascular. Todavia, em condições inflamatórias, há aumento do número de neutrófilos e as células sanguíneas deslocam-se para periferia do vaso e se aderem às células do

endotélio vascular. Os neutrófilos são as primeiras células recrutadas para o sítio de infecção, mecanismo este mediado principalmente pelas interleucinas, $\text{INF-}\gamma$ e $\text{TNF-}\alpha$ liberados pelas células endoteliais ativadas e células do complemento (SEYMOUR; GEMMELL, 2001). De fato, no Grupo Endometrite-Piometra, a evidente leucocitose com desvio à esquerda, caracterizada por liberação no sangue de células imaturas (bastonetes) da medula óssea, elucida o mecanismo de recrutamento leucocitário durante a inflamação e infecção. Ainda, verificou-se correlação negativa entre a contagem de bastonetes no leucograma e os índices hemodinâmicos (RI, PI e S/D). Infere-se, portanto, que o aumento do número de bastonetes associado à baixa resistência vascular na artéria uterina resulta em aumento do fluxo sanguíneo local. Este último favorece o deslocamento e adesão dos neutrófilos às células endoteliais e, conseqüentemente, a diapedese dos neutrófilos do meio intravascular para o tecido endometrial.

Em mulheres, o fluxo de sangue para o útero é um fator importante e limitante para a hiperplasia endometrial (ROGERS; LEDERMAN; TAYLOR 1998). Estudos recentes demonstram que o aumento da resistência vascular da artéria radial ou uterina pode ser o fator responsável pelo adelgaçamento do endométrio e conseqüente perda gestacional em mulheres (RICHTER et al., 2007). Takasaki et al. (2010) postularam que o aumento da resistência vascular uterina impede o crescimento do epitélio glandular e resulta em diminuição da expressão do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF). Na ausência de VEGF e, por conseqüente, desenvolvimento vascular inadequado, o fluxo sanguíneo para o útero diminui, resultando em ciclo vicioso e em endométrio delgado. Acredita-se que este mecanismo seja semelhante na espécie canina. A correlação negativa entre as medidas dos cornos uterinos (EPCU, DTCU e corpo uterino) e os índices hemodinâmicos sugere a inter-relação entre o aumento do fluxo sanguíneo e a expressão do VEGF no útero de cadelas com HEC-Piometra. Neste particular sentido, estudos futuros devem ser realizados para que os possíveis mecanismos fisiopatogênicos desta síndrome possam ser decifrados.

Há décadas, a influência dos hormônios esteroidais, progesterona e estrógeno, no fluxo sanguíneo uterino está bem esclarecida. Durante a fase folicular do ciclo estral, quando a relação estrógeno/progesterona está aumentada, o fluxo sanguíneo para o útero também aumenta. Todavia, trata-se de fluxo exacerbado durante a ovulação, quando a relação estrógeno/progesterona é máxima. Por outro

lado, durante a fase lútea do ciclo, quando os níveis séricos de progesterona estão elevados e os níveis de estrógeno diminuídos, o fluxo sanguíneo para o útero retorna aos níveis basais (FORD, 1979). Em concordância com Alvarez-Claus e Liste (2005), durante o diestro fisiológico, o fluxo sanguíneo do útero apresenta uma onda de alta resistência com queda brusca da velocidade ao final da sístole ou início da diástole, fenômeno este denominado de “notch” (Figura 9). A presença de um fluxo reverso ao início da diástole também é caracterizado como alta resistência vascular (Figura 10) (BLANCO et al., 2008). Os resultados do presente estudo demonstraram que a forma da onda durante um ciclo cardíaco apresenta variação entre os grupos, caracterizando perfusão uterina diferenciada, determinada por fluxo de baixa resistência e alta velocidade (Figura 12) na presença de inflamação. Acredita-se que neste último grupo (Endometrite-piometra), tal morfologia de onda da artéria uterina esteja relacionada à neovascularização endometrial decorrente da inflamação, culminando em maior perfusão tecidual.

Igualmente às observações realizadas por Alvarez-Claus e Liste (2005), também foi possível constatar que pequenas interferências durante a realização do exame podem culminar em alteração da forma da onda no que se refere à presença ou ausência de fluxo reverso. Tais detalhes podem ser exemplificados pela variação no posicionamento da probe e, conseqüentemente, no ângulo de insonação, além da mensuração do fluxo em região não convencional, como na região do corno uterino. A vesícula urinária extremamente repleta, apesar de ser utilizada como janela acústica, dificulta a visibilização e localização dos vasos, já que as mensurações são, preferencialmente, realizadas na região do corpo uterino. Em tais situações, é necessário que o exame seja realizado na região dos cornos uterinos, onde há ramificações da artéria uterina e, por conseguinte, as mensurações podem resultar em valores diferenciados dos reais. Pode-se citar, ainda, como possível fator adverso à realização do exame e mensuração do fluxo em região não preferencial, a dificuldade de visibilização da artéria uterina esquerda na presença do cólon descendente repleto.

6.3 Avaliação ultrasonográfica por Doppler colorido

Recentemente, Silva et al. (2009) demonstraram que a PGF2 α , a PGE2 e a enzima COX-2 (precursora da conversão do ácido araquidônico em prostaglandina) atuam de maneira sinérgica na modulação da resposta inflamatória do endométrio e apresentam expressão significativa em cadelas com piometra, em comparação às cadelas em diestro fisiológico. A vasoconstrição é considerada a principal ação da PGF2 α , Contrariamente, a PGE2 atua principalmente na vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, culminando em diapedese das células polimorfonucleares para o sítio de infecção e/ou inflamação (CHIZZOLINI e BREMBILLA, 2009). Ademais, a PGE2, quando em altas concentrações no lúmen uterino, apresenta também ação imunossupressora, inibindo as células polimorfonucleares e, desta maneira, favorece e perpetua a infecção uterina (MATHEUS et al., 2003). Em nosso estudo, o escore médio de vascularização endometrial no Grupo Endometrite-Piometra foi 3 (mínimo 2 e máximo 4), caracterizado pela presença de vasos calibrosos e de intensidade de coloração significativa no endométrio (Figura 3). É possível inferir que a correlação positiva entre o escore de vascularização endometrial e a contagem de bastonetes no Grupo Endometrite-Piometra possa ser justificada pela ação da PGE2 na vasodilatação e supressão da resposta imune, com conseqüente piora do quadro clínico. Ademais, a correlação negativa entre o número de leucócitos totais e os índices hemodinâmicos caracteriza a resposta do organismo frente à ação das endotoxinas, bem como a ação das prostaglandinas na modulação da resposta inflamatória uterina.

Em Medicina Humana, a ultrasonografia pelo Doppler colorido é comumente utilizada na diferenciação de processos fisiológicos e patológicos (EMOTO et al., 2002). Apesar de se tratar de avaliação subjetiva, pode ser eficiente no diagnóstico diferencial quando realizada de maneira minuciosa. No presente experimento, a espessura dos cornos uterinos apresentou pouca variação à comparação dos grupos. Contrariamente, o escore de vascularização endometrial diferiu entre os grupos, embora o mesmo não tenha sido observado para a mensuração da espessura dos cornos uterinos. Sugere-se que o aumento da espessura do endométrio não esteja diretamente relacionado à presença do processo inflamatório. Entretanto, não há, até o momento, estudos que demonstrem a ação de precursores

da inflamação na expressão de fatores de crescimento endometrial e fatores de crescimento vascular no útero de cadelas com HEC-Piometra.

6.4 Considerações gerais

A classificação histológica do presente estudo foi baseada e corroborada por estudos prévios de De Bosschere et al. (2001). É importante ressaltar que o diagnóstico da HEC-Piometra é definitivo quando a avaliação histológica do útero é realizada, uma vez que o aspecto macroscópico dos tecidos e do conteúdo intra-uterino pode resultar em diagnóstico impreciso e/ou errôneo, principalmente na ausência de sintomatologia clínica. Entretanto, para tal avaliação, é necessária a realização de técnicas invasivas, tais como a biópsia uterina ou esterilização do animal, procedimentos estes nem sempre aceitos pelos proprietários. Por este motivo, sugere-se a avaliação ultrasonográfica por Doppler como uma ferramenta diagnóstica pontual e promissora para o diagnóstico diferencial das afecções uterinas, principalmente por seu caráter não invasivo.

CONCLUSÃO



Nas condições deste estudo e com base nos resultados apresentados pode-se concluir que:

1. Os mecanismos compensatórios do organismo frente à ação do agente infeccioso na Endometrite-Piometra, bem como os mecanismos envolvidos na sua eliminação, estão na dependência da velocidade do fluxo sanguíneo e índices hemodinâmicos da artéria uterina;

2 Foi determinado a velocidade do fluxo sanguíneo e os índices hemodinâmicos da artéria uterina na HEC-Piometra;

3 O escore de vascularização endometrial, bem como a forma da onda difere em fêmeas com e sem afecção uterina;

4 A ultrasonografia Doppler é uma ferramenta diagnóstica, não invasiva, de alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico diferencial entre HEC-Mucometra e Endometrite-Piometra na espécie canina.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ALVAREZ-CLAU, A.; LISTE, F. Ultrasonographic characterization of the uterine artery in the nonestrus bitch. **Ultrasound in Medicine and Biology**, v. 32, n. 12, p. 1583-1587, 2005.

ATTIA, M. A. Thirteen-weeks subcutaneous treatment with oestradiol or an oestradiol/progesterone combination in beagle bitches. **Dtsch Tierarztl Wochenschr**, v. 96, p. 399-408, 1989.

AYYAPPAN, S.; ARCHIBALD DAVID, W. P.; MUTHU MOHAMMED, M. S. Formol gel test-clinical application in pyometra. **Cheiron**, v. 21, p. 186-188, 1992.

BARTON, C. Diseases of the uterus- Cystic endometrial hyperplasia/pyometra complex. In: MORGAN, R. V. (Ed.). **Handbook of Small animal Practice**, 2.ed. New York: Churchill Livingstone, 1992. p. 655-658.

BIGLIARDI, E.; PARMIGIANI, E.; CAVIRANI, S.; LUPPI, A.; BONATI, L.; CORRADI, A. Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 39, n. 3, p. 136-140, 2004.

BLACK, W. G.; SIMON, J.; KIDDER, H. E.; WILTBANK, J. N. Bactericidal activity of the uterus in the rabbit and cow. **American Journal Veterinary Research**, v.15, p. 247-251, 1954.

BLANCO, P. G.; ARIAS, D. O.; GOBELLO, C. Doppler ultrasound in canine pregnancy. **Journal Ultrasound Medicine**, v. 27, p. 1745-1750, 2008.

BLENDINGER, B.; BOSTEDT, H.; HOFFMANN, B. Hormonal state and effects of the use of an antiprogesterin in bitches with pyometra. **Journal Reproduction and Fertility**, v. 51, p. 317-325, 1997. Supplement.

BOLLWEIN, H.; WEBER, F.; WOSCHEE, I.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine and umbilical blood flow during pregnancy in mares. **Theriogenology**, v. 61, n. 2-3, p. 499-509, 2004.

- BORRESEN, B.; NAESS, B. Microbiological, immunological and toxicological aspects of canine pyometra. **Acta Veterinary Scandinava**, v. 18, p. 569-571, 1977.
- BORRESEN, B. pyometra in the dog- a pathophysiological investigation. IV. Functional derangement of extragenital organs. **Nordisk Veterinaer Medicin**, v. 32, p. 255-268, 1980.
- BOWEN, R. A.; OLSON, P. N.; BEHRENDT, M. D.; WHEELER, S. L.; HUSTED, P. W.; NETT, T. M. Efficacy and toxicity of estrogens commonly used to terminate canine pregnancy. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 168, p. 783-788, 1985.
- BRITO, A. B.; MIRANDA, S. A.; RUAS, M. R.; SANTOS, R. R.; DOMINGUES, S. F. S. Assessment of feline fetal viability by conceptus echobiometry and triplex Doppler ultrasonography of uterine and umbilical arteries. **Animal Reproduction Science**, v. 122, p. 276-281, 2010.
- CAWSTON, T. E. Metalloproteinase inhibitors and the prevention of connective tissue breakdown. **Pharmacology Therapy**, v. 70, p. 163-182, 1996.
- COELHO, L. A. Curso de ecografia vascular. **Revista de Angiologia e Cirurgia Vascular**, v.7, p. 25-35, 1998.
- CHASTAIN, C. B.; PANCIERA, D.; WATERS, C. Association between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs. **Small Animal Endocrinology**, v. 8, p. 9, 1999.
- CHEN, Y. M.; WHRIGHT, P. J.; LEE, C. S. A model fro the study of cystic endometrial hyperplasia in bitches. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v. 57, p. 407-414, 2001.
- CHIZZOLINI, C.; BREMBILLA, N. C. Inflammation Prostaglandin E2: igniting the fire. **Immunology and Cell Biology**, v. 87, p. 510-511, 2009.
- CHOI, W. P.; KAWATA, K. O-group of Escherichia coli from canine anda feline pyometra. **JPN. Journal of Veterinary Research**, v. 23, p. 141-143, 1975.

COLOMBO, G.; BACCANI, D.; MASI, D.; MATTIOLI, M.; PANNELLI-STRAINE, R.; CAIROLI, F. Plasma progesterone and oestrogen levels and steroid dehydrogenase activity of corpora lútea in the bitch affected by pyometra. **La Clinica Veterinaria**, v. 105, p. 196-203, 1982.

DE BOSSCHRE, H.; DUCATELLE, H.; VERMEIRSCH, H.; VAN DEN BROECK, W.; CORYN, M. Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch: should the two entities be disconnected? **Theriogenology**, v. 55, n. 7, p. 1509-1519, 2001.

DE BOSSCHERE, H.; DUCATELLE, R.; VERMEIRSCH, H.; SIMOENS, P.; CORYN, P. Estrogen- α and progesterone receptor expression in cystic endometrial hyperplasia and pyometra in the bitch. **Animal Reproduction Science**, v. 70, p. 251-259, 2002.

DE BOSSCHERE, H.; DUCATELLE, R.; TSHAMAL, M. Uterine oestrogen and progesterone receptor expression in experimental pyometra in the bitch. **Journal of Comparative Pathology**, v. 128, p. 99-106, 2003.

DE COCK, H.; VERMEIRSCH, H.; DUCATELLE, R.; LOGGHE, J. P. Immunohistochemical localization of estrogen receptors in the normal canine female genital tract. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 14, p. 133-137, 1997.

DE COSTER, R.; D'IETREN, G.; JOSSE, M.; JACOVLIJEVIC, S.; ECTORS, F.; DERIVAUX, J. Aspects clinique, histologique, bactériologique et hormonal de la métrite chronique chez la chienne. **Annales de Médecine Vétérinaire**, v. 123, p. 233-247, 1979.

DHALIWAL, G. K.; ENGLAND, G. C. W.; NOAKES, D. E. Oestrogen and progesterone receptors in the uterine wall of bitches with cystic endometrial hyperplasia/pyometra. **Veterinary Record**, v. 145, p. 455-457, 1999.

DI SALVO, P.; BOCCI, F.; ZELLI, R.; POLISCA, A. Doppler evaluation of maternal and fetal vessels during normal gestation in the bitch. **Research in Veterinary Science**, v. 81, p. 382-388, 2006.

DOW, C. The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. **Veterinary Record**, v. 69, p. 1409-1415, 1957.

- DOW, C. The cystic hiperplasia-pyometra complex in the bitch. **Veterinary Record**, v. 70, p. 1102-1108, 1958.
- DOW, C. Experimental reproduction of the cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. **Journal Pathology Bacteriology**, v. 78, p. 267-277, 1959.
- EGENVALL, A.; HAGMAN, R.; BONNET, B.; HEDHAMMAR, A.; OLSSON, P.; LAGERSTEDT, A. S. Breed ris of pyometra in insured dogs in Sweden. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.15, p. 530-538, 2001.
- EMOTO, M.; TAMURA, R.; SHIROTA, K.; HACHISUGA, T.; KAWARABAYASHI, T. Clinical usefulness of color Doppler ultrasound in patients with endometrial hyperpasia and carcinoma. **American Cancer Society**, v. 94, n. 3, 2002.
- EWALD, B. H. A survey of the cystic hyperplasia-piometra complex in the bitch. **Small Animal Clinical**, v. 1, p. 383-386, 1961.
- FUKUDA, S. Incidence of pyometra in colony-raised beagle dogs. **Experimental Animal**, v. 50, p. 325-328, 2001.
- FEIGENBAUM, H. Instrumentation. In: **Echocardiography**. 4.ed. Philadelphia. Lea and Febiger, 1986. cap.1, p.1-49.
- FIENI, F. Clinical evaluation of the use of aglepristone, with or without cloprostenol, to treat cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in bitches. **Theriogenology**, v.66, p. 1550-1556, 2006.
- FRANSSON, B.; LAGERSTEDT, A. S.; HELLMEN, E.; JONSSON, P. Bacteriological findings, blood chemistry profile and plasma endotoxin levels in bitches with pyometra or other uterine diseases. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 44, p. 417-426, 1997.
- FRANSSON, B. A.; RAGLE, C. A. Canine Pyometra: An Update on Pathogenesis and Treatment. **Compedium**, Washington, v. 25, n. 8, p. 602-612, 2003.
- FELDMAN, E. C.; NELSON, R. W. Diagnosis and treatment alternatives for pyometra in dogs and cats. **Current Veterinary The Small animal Practice**, v. 10, p. 1305-1310, 1989.

FELDMAN, E. C.; NELSON, R. W. Cystic endometrial hyperplasia/pyometra complex. In: Kersey R, editor. **Canine and feline endocrinology and reproduction**. 2. ed. Phyladelphia: WB Saunders Company, 1996. p. 605-618.

FERNANDES, P. A.; BOWEN, R. A.; SAWYER, H. R.; NETT, T. M.; GORELL, T. A. Concentration of receptors for estradiol and progesterone in canine endometrium during estrus and diestrus. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, p. 64067, 1989.

FREITAS, P. M. C.; SANTOS, A. L. Q.; FERREIRA, F. A.; MOTA, F. C. D. Comportamento das artérias extramurais do útero de cães sem raça definida (*Canis familiaris-Linnaeus*, 1758). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, p. 81-86, 2002.

FRANCISCO, R. P. V.; ZUGAIB, M. Análise crítica da dopplervelocimetria para avaliação da vitalidade fetal. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 30, n. 4, p. 163-166, 2008.

FOSSUM, T. W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 1335 p. 1997.

FORD, S. P.; CHRISTENSON, R. K.; CHENAULT, J. R. Patterns of blood flow to the uterus and ovaries of ewes during the period of luteal regression. **Journal Animal Science**, v. 49, n. 6, p. 1510-1516, 1979.

GANDOTRA, V. K.; SINGLA, V. K.; KOCHHAR, H. P. S.; CHAUHAN, F. S.; DWIVEDI, P. N. Haematological and bacteriological studies in canine pyometra. **Indian Veterinary Journal**, v. 71, p. 816-818, 1994.

GOODWIN, J.; SCHAER, M. Septic shock. **Veterinary Clinical North American: Small Animal Practice**, v. 19, p. 1239-1258, 1989.

GREENFIELD, L. J. Septic shock as a complication of gram-negative infection. In: PEYTON, H. J.; GREENFIELD, L. J. **Gram Negative Sepsis**. 2. ed. Surgiman, 1981. p. 430-438.

GRINDLAY, M.; RENTON, J. P.; RAMSAY, D. H. O-group of *Escherichia coli* associated with canine pyometra. **Research of Veterinary Science**, v. 14, p. 75-77, 1973.

HADLEY, J. The development of cystic endometrial hyperplasia in the bitch following serial uterine biopsies. **Journal Small Animal Practice**, v. 16, p. 249-257, 1975.

HAGMAN, R.; LAGERSTEDT, A. S.; HEDHAMMAR, A.; EGENVALL, A. A breed-matched case-control study of potential risk-factors for canine pyometra. **Theriogenology**, v. 75, p. 1251-1257, 2011.

HAGMAN, R.; GREKO, C. Antimicrobial resistance in Escherichia coli isolated from bitches with pyometra and from urine samples from other dogs. **Veterinary Record**, v. 157, p. 193-196, 2005.

HARDIE, E. M. Life-threatening bacterial infection. **Compendium Continuing Education Practice Veterinary**, v. 17, p. 763-777, 1995.

HARDY, R. M.; OSBORNE, C. A. Canine pyometra: pathophysiological diagnosis and treatment of uterine and extra-uterine lesions. **Journal American Hospital Association**, v. 10, p. 245-267, 1974.

HART, J. E. Endocrine pathology of estrogens: species differences. **Pharmacology Therapeutics**, v. 201, p. 203-218, 1990.

HARRINGTONS, K.; COOPER, D.; LEES, C.; HECHER, K.; CAMPBELL, S. Doppler ultrasound of the uterine arteries: the importance of bilateral notching in the prediction of pre-eclampsia, placental abruption or delivery of a small-for-gestational-age baby. **Ultrasound Obstetrics and Gynecology**, v.7, n.3, p.182-188, 1996.

HAWK, H. W.; TURNER, G. D.; SYKES, J. F. The effect of ovarian hormones on the uterine defense mechanism during the early stage of induced infection. **American Journal Veterinary Research**, v.21, p. 644-648, 1960.

HEIENE, R.; KRISTIANSEN, V. TEIGE, J. Renal histomorphology in dogs with pyometra and control dogs, and long term clinical outcome with respect to signs of kidney disease. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 49, p. 13-22, 2007.

HELLIWELL, R.; ADAMS, L.; MITCHELL, M. Prostaglandin synthases: recent developments and a novel hypothesis. **Prostaglandins Leukotrienes & Essential Fatty Acids**, v. 70, p. 101-113, 2004.

HELPER, L. C. Diagnosis of pregnancy in the bitch with an ultrasonic Doppler instrument. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 156, p. 60-62, 1979.

HICKEY, M. J. Role of inducible nitric oxide synthase in the regulation of leucocyte recruitment. **Clinical Science**, v. 100, p. 1-12, 2001.

JOHNSTON, S. D.; KUSTRITZ, M. V. R.; OLSON, P. N. S. **Canine and feline theriogenology**. Philadelphia: WB Saunders Company, 2001. p. 206-224.

JUNQUEIRA, L. C. U. Histology revisited - Technical improvement promoted by the use of hydrophilic resin embedding. **Ciência e Cultura**, v. 47, p. 92-95, 1995.

KIDA, K.; BABA, E.; TORII, R.; KAWATE, N.; HATOYA, S.; WIJEWARDANA, V.; SUGIURA, K.; SAWADA, T.; TAMADA, H.; INABA, T. Lactoferrin expression in the canine uterus during the estrous cycle and with pyometra. **Theriogenology**, v. 66, p. 1325-1333, 2006.

KÖSTER, K.; POULSEN NAUTRIP, C.; GÜNZEL-APEL, A. R. A Doppler ultrasonographic study of cyclic changes of ovarian perfusion in the Beagle bitch. **Reproduction**, v. 122, p. 453-461, 2001.

KUNKITTI, P.; SRISUWATANASAGUL, S.; CHATDARONG, K. Distribution of estrogen receptor alpha and progesterone receptor, and leukocyte infiltration in the cervix of cyclic bitches and those with pyometra. **Theriogenology**, v. 785, p. 979-987, 2011.

LESSEY, B. A.; WAHAWISAN, R.; GORELLO, T. A. Hormonal regulation of cytoplasmic estrogen and progesterone receptors in the beagle uterus and oviduct. **Molecular Cell Endocrinology**, v. 21, p. 171-180, 1981.

LEVEY, A. S. Use of glomerular filtration rate measurements to assess the progression of renal diseases. **Seminars in Nephrology**, v. 9, p. 370-379, 1989.

LUZ, M.; BERTAN, C.; BINELLI, M.; LOPES, M. In vitro PGF₂ α production by endometrium and corpus luteum explants from pregnant and nonpregnant diestrus bitches and placental explants from pregnant bitches. **Theriogenology**, v.66, p. 1442-1447, 2006.

MADDENS, B.; DAMINET, S.; SMETS, P.; MEYER, E. Escherichia coli pyometra induces transient glomerular and tubular dysfunction in dogs. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p. 1263-1270, 2010.

MATHEUS, L.; COSTA, L. L.; DINIZ, P.; ZIECIK, A. J. Relationship between endotoxin and prostaglandin (PGE2 and PGFM) concentrations and ovarian function in dairy cows with puerperal. *Animal Reproduction Science*, v. 76, p. 143-154, 2003.

MC ANULTY, J. F. Septic shock in the dog: a review. **Journal of American Animal Hospita Association**, v. 19, p. 827-836, 1983.

MESQUITA JR., D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T; SOUZA, A. W. S.; SILVA, N. S.; ANDRADE, L. E. C; CRUVINEL, W. M. Aspectos celulares e moleculares da inflamação. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, n. 5, 2010.

MIRANDA, S. A.; DOMINGUES, S. F. S. Conceptus ecobiometry and triplex Doppler ultrasonography of uterine and umbilical arteries for assessment of fetal viability in dogs. **Theriogenology**, v. 74, n. 4, p. 608-616, 2010. press, 2010.

NAUTRUP, C. P.; TOBIAS, R. **An atlas and textbook of diagnostic ultrasonography of the dog and cat**. London: Manson Publishing, 2000. p.83-108, 2000.

NEWMAN, S. J.; CONFER, A. W.; PANCIERA, R. J. Urinary system. In: McGavin, M.D.; Zachary, J.F., (Ed.). **Pathologic Basis of Veterinary Disease**, 4th ed. St. Louis, MO: Mosby-Elsevier, 2006. p. 613-652.

NISKANEN, M.; THRUSFIELD, M. V. Association between age, parity, hormonal therapy and breed and pyometra in finnish dogs. **Veterinary Record**, v. 143, n. 18, p. 493-498, 1998.

NOMURA, K. Canine pyometra with cystic endometrial hyperplasia experimentally induced by E. coli inoculation. **Nippon Juigaku Zasshi**, v. 45, p. 237-240, 1983.

NOMURA, K. Clinical signs, intrauterine bacteria and plasma progesterone level in bitches with pyometra. **Journal Japanese Veterinary Medical Association**, v. 37, p. 83-89, 1984.

NOAKES, D.E.; PARKINSON, T.J. ENGLAND, G.C.W. **Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics**, 8a.ed, Toronto: WB Saunders, 868p. 2001.

NYLAND, T. G.; MATTOON, J. S. Ovaries and uterus. **In:** Kersey R. Editor. **Small Animal Diagnostic Ultrasound**. 2nd ed., Saunders, p. 239-249, 2002.

NUIJENS, J. H.; VAN BERKEL, P. H. C.; SCHANBACHER, F. L. Structure and biological action of lactoferrin. **Journal of Mammary Gland Biological Neoplasia**, v. 1, p. 285-295, 1996.

OKANO, S.; TAGAWA, M.; TAKASE, K. Relationship of the blood endotoxin concentration and prognosis in dogs with pyometra. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v. 60, p. 1265-1267, 1998.

PANCIERA, D. L.; RITCHLEY, J. W.; WARD, D. L. Endotoxin-induced nonthyroidal illness in dogs. **American Journal Veterinary Research**, v. 64, p. 229-234, 2003.

PRESTES, N. C.; BICUDO, S. D.; LANDIN ALVARENGA, F. C. Aplasia o fone uterine horn associated with pyometra in a female dog. **Veterinary Not**, v. 3, p. 133-134, 1997.

PRETZER, D. S. Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: a review. **Theriogenology**, v.70, p. 359-363, 2008.

RIETSCHER, E. T. H.; SCHADE, V.; JENSEN, M. Bacterial endotoxins, chemical structures, biological activity and role in septicaemia. **Scandinavian Journal Infection Disease**, v. 31, p. 8-21, 1982.

RICHTER, K. S.; BUGGE, K. R.; BROMER, J. G.; LEVY, M. J. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1,294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos. **Fertility and Sterility**, v. 87, p. 53-59; 2007.

ROGERS, P. A.; LEDERMAN, F.; TAYLOR, N. Endometrial microvascular growth in normal and dysfunctional states. **Human Reproduction Update**, v. 5, p. 503-528, 1998.

ROOT, C. R.; SPAULDING, K. A. Diagnostic imaging in companion animal theriogenology. **Semin Veterinary Medicine Surgery**, v. 9, p. 7-27, 1994.

SALLMANN, F. R.; BAVEYE-DESCAMPS, S.; PATTUS, F.; SALMON, V.; BRANZA, N.; SPI, K, G.; LEGRAND, D. Porins OmpC and PhoE of *Escherichia coli* as specific cell-surface targets of human lactoferrin. Bindings characteristics and biological effects. **Journal Biological Chemistry**, v. 274, p. 16107-11416, 1999.

SANDHOLM, M.; VASENIUS, H.; KIVISTO, A. K. Pathogenesis of canine pyometra. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 167, p. 1006-1010, 1975.

SAVELLI, L.; TESTA, A. C.; MABROUK, M.; ZANNONI, L.; LUDOVISI, M.; SERACCHIOLI, R.; SCAMBIA, G.; DE LACO, P. A prospective blinded comparison of the accuracy of transvaginal sonography and frozen section in the assessment of myometrial invasion in endometrial cancer. **Gynecological Oncology**, v. 124, n. 3, p. 549-552, 2012.

SCOTTI L, P.; DI SALVO, B. F.; PIERAMATI, C.; POLISCA, A. Doppler evaluation of maternal and fetal vessels during normal gestation in queen. **Theriogenology**, v. 69, p. 1111-1119, 2008.

SEYMOUR, G. J.; GEMMELL, E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? **Acta Odontologica Scandinava**, v. 59, n. 3, p. 167-173, 2001.

SILVA, E.; LEITÃO, S.; DIAS, G. F.; COSTA, L. L.; MATEUS, I. Prostaglandin synthesis genes are differentially transcribed in normal and pyometra endometria of bitches. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, p. 200-203, 2009. Supplement 2.

SMITH, F. O.; Canine pyometra. **Theriogenology**, v. 66, p. 610-612, 2006.

STOWATER, J. L.; MEMON, M.A.; HARTZBAND, L.E; TIDWELL, A. S. Ultrasonographic features of the dog uterus and fetus. **Journal Reproduction and Fertility**, v. 39, p. 329-330, 1989. Supplement.

STONE, E.A. Ovário e Útero. In: SLATTER, D. Manual de Cirurgia de Pequenos Animais. W.B.Saunders, 1998. p.1540-1558.

SUGIURA, K.; NISHIKAWA, M.; ISHIGURO, K.; TAJIMA, T.; INABA, M.; TORRI, R.; HATOYA, S.; WIJewardan, V.; KUMAGAI, D.; TAMADA, H.; SAWADA, T.; IKEHARA, S.; INABA, T. Effect of ovarian hormones on periodical

changes in immune resistance associated with estrous cycle in the beagle bitch. **Immunobiology**, v. 209, p. 619-627, 2004.

TAYLOR, K. J. W.; QUEDENS-CASE, C. L. Doppler applications in gynecology. In: TAYLOR, K. J. W.; BURNS, P. N.; WELLS, P. N. T. (Ed.). **Clinical applications of Doppler Ultrasound**. 2nd ed. New York: Raven Press, 1995. p. 221-249.

TAKASAKI, A.; TAMURA, H.; MIWA, I.; TAKETANI, T.; SHIMAMURA, K.; SUGINO, N. Endometrial growth and uterine blood flow: a pilot study for improving endometrial thickness in the patients with a thin endometrium. **Fertility and Sterility**, v. 93, n. 6, p. 1851-1858, 2010.

TSAI, M. J.; CLARK, J. H.; SCHRADER, W. T.; O'MALLEY, B. W. Physiological considerations in steroid hormone action. In: WILSON, J. D.; FOSTER, D. W.; KRONENBERG, H. M.; LARSEN, P. R. (Ed.). **Williams textbook of endocrinology**. 9th ed. Philadelphia: WB Saunders, p. 78-84. 1998.

TSUMAGARI, S.; ISHINAZAKA, T.; KAMATA, H.; OHBA, S.; TANAKA, S.; ISHII, M.; MEMON, M. A. Induction of canine pyometra by inoculation of *Escherichia coli* into the uterus and its relationship to reproductive features. **Animal Reproduction Science**, v. 87, p. 301-308, 2005.

WESSELS, B. C.; WELLS, M.T. Antiendotoxin immunotherapy for canine pyometra endotoxemia. **Journal American Animal Hospital Association**, v., 25, p. 455-460, 1989.

WINKLER, M.; OBERPICHLER, A.; TSCHESCHE, H.; RUCK, P.; FISCHER, D. C.; RATH, W. Collagenolysis in the lower uterine segment during parturition at term: correlations with stage of cervical dilatation and duration of labour. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v.181, p. 153-158, 1999.

WHITEHEAD, M. L. Risk of pyometra in bitches treated for mismating with low doses of oestradiol benzoate. **The Veterinary Record**, v. 162, p. 746-749, 2008.

VANDEPLASSCHE, M.; CORYN, M.; DESCHEPPER, J. Pyometra in the bitch: cytological, bacterial, histological and endocrinological characteristics. **Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift**, v. 60, p. 207-211, 1991.

VERMILLON, R. P. Basic physical principles. In: SNIDER, A. R.; RITER, S. B.; SERVER, G. A. **Echocardiography in pediatric heart disease**. 2. ed. Missouri: Mosby, 1997. cap.1, p.1-10.

VERVERIDIS, H. N.; BOSCOS, C. M.; STEFANAKIS, A.; KRAMBOVITIS, E. Use of enzyme-immunoassay for oestradiol-17 β and progesterone quantification in canine serum. **Animal Reproduction Science**, v. 69, p. 53-54, 2002.

VERVERIDIS, H. N.; BOSCOS, C. M.; STEFANAKIS, A.; SARATIS, P.; STAMOU, A. I.; KRAMBOVITIS, E. Serum estradiol-17 beta, progesterone and respective uterine cytosol receptor concentrations in bitches with spontaneous pyometra. **Theriogenology**, v. 62, p. 614-623, 2004.

VOGES, A. K.; NEUWIRTH, L. Ultrasound diagnosis-cystic uterine hyperplasia. **Veterinary Radiology Ultrasound**, v.37, p. 131-132, 1996.

WIKES, P. G.; OLSON, P. N. Moléstias do útero. In: BOJRAB, M. J. **Mecanismos da moléstia na cirurgia dos pequenos animais**. 2. ed. São Paulo, Manole, 1996. p. 665-669.

WHEATON, L. G.; JOHNSON, A. L.; PARKER, A. J. Results and complications of surgical treatment of pyometra: a review of 80 cases. **Journal American Animal Hospital Association**, v. 25, p. 563-568, 1989.