

PATRÍCIA MONTEIRO MARCHETTI

**Avaliação morfométrica e hemodinâmica da placenta canina e sua
relação com o desempenho clínico neonatal no período adaptativo
inicial**

SÃO PAULO

2022

PATRÍCIA MONTEIRO MARCHETTI

Avaliação morfométrica e hemodinâmica da placenta canina e sua relação com o desempenho clínico neonatal no período adaptativo inicial

Dissertação 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 Mestre em Ciências.

Departamento:

Reprodução Animal

Área de Concentração:

Reprodução Animal

Orientador:

Profa. Dra. Camila Infantosi Vannucchi

SÃO PAULO

2022

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)

4259
FMVZ

Marchetti, Patrícia Monteiro
Avaliação morfométrica e hemodinâmica da placenta canina e sua relação com o desempenho clínico neonatal no período adaptativo inicial / Patrícia Monteiro Marchetti. – 2022.
72 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2022.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Camila Infantsi Vannucchi.

1. Hemodinâmica. 2. Placenta. 3. Vitalidade neonatal. 4. Cadelas. I. Título.



Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação morfométrica e hemodinâmica da placenta canina e correlação com vitalidade neonatal", protocolada sob o CEUA nº 6414140819 (ID 007016), sob a responsabilidade de **Camila Infantsi Vannucchi e equipe; Patrícia Monteiro Marchetti** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 25/09/2019.

We certify that the proposal "Evaluation morphometric and hemodynamic of canine placenta and correlation with neonatal vitality", utilizing 8 Dogs (males and females), protocol number CEUA 6414140819 (ID 007016), under the responsibility of **Camila Infantsi Vannucchi and team; Patrícia Monteiro Marchetti** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 09/25/2019.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [08/2019](#) a [12/2020](#)

Área: [Reprodução Animal](#)

Origem: [Animais de proprietários](#)

Espécie: [Cães](#)

sexo: [Machos e Fêmeas](#)

idade: [2 a 5 anos](#)

N: [8](#)

Linhagem: [Raças variadas](#)

Peso: [20 a 30 kg](#)

Local do experimento: [Laboratório de Inseminação Artificial, Patologia da Reprodução e Perinatologia - LIAPP](#)

São Paulo, 10 de fevereiro de 2022

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Camilla Mota Mendes
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: MARCHETTI, Patrícia Monteiro

Título: **Avaliação morfométrica e hemodinâmica da placenta canina e sua relação com o desempenho clínico neonatal no período adaptativo inicial**

Dissertação 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 Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

*À Meggy e à Luna;
à Laika e à Sininho.*

*In memoriam:
à Suzi, à Jully, à Mel e à Maia.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a vida e com vida quero dizer que agradeço a tudo que eu já passei, a tudo que eu já vivi e a todos que eu já conheci, pois assim, eu cresci.

À todas as fêmeas que participaram deste estudo e aos seus responsáveis que assim permitiram.

Ao meu amor, meu companheiro, meu amigo, meu esposo Mário Marchetti Monteiro por todo apoio que me deu durante esses anos intensos e por ser meu ponto de equilíbrio. Eu te admiro muito como pessoa e profissional. Eu te amo e tenho certeza de que a nossa história não começou 'apenas' há 17 anos, mas sim em outras vidas e espero que possamos viver muitos e muitos anos, juntos e felizes.

À minha mãe, a Sr.^a Elisabete Moraes Sant'Anna, por todo amor e esforço na minha criação, pelo exemplo de mulher forte, guerreira e determinada, pela educação que me deu e por me mostrar que tudo que queremos podemos ter, se corrermos atrás para conseguir. Obrigada por acreditar e investir em mim. Eu te amo!

À minha irmã Danielle Moraes Monteiro, que apesar de mais nova, sempre tem um bom conselho quando preciso. Obrigada por me incentivar e acreditar no meu potencial, mesmo quando, às vezes, eu mesma não acredito. Obrigada por ser alguém que eu sei que posso contar, se um dia precisar. É um privilégio te ter como minha irmã e saiba que tenho muito orgulho da mulher que você se tornou. Eu te amo! Agradeço também ao meu cunhado Marcos Paulo Pastor, por existir nas nossas vidas e tornar nossos dias mais leves e alegres. Obrigada por cuidar tão bem da minha irmã, pois vê-la feliz, me faz feliz. Obrigada também por todo apoio, conselhos e incentivo, que me deu durante todos esses anos.

À minha sogra Sr.^a Márcia Marchetti, por ter me dado meu bem mais precioso, pelas conversas e por aguentar as nossas ausências durante esse período.

À querida Harumi, pela amizade e carinho, por sempre ter uma boa conversa, me escutar sempre que precisei desabafar e ter paciência em esclarecer minhas muitas dúvidas durante todos esses anos.

À Dr.^a Cláudia Pereda, pela amizade, companhia, risadas, conversas e suporte nas minhas análises. Obrigada por cada ensinamento e tenha certeza de que com você, tudo ficou mais leve, fácil e legal. Ao querido Diogo Palermo, por me aguentar em seu laboratório, pelas risadas, conversas e estar sempre disposto a me ajudar e

ensinar, mesmo fora do seu horário de expediente. Os dias de laboratório foram mais leves, fáceis e legais, também por sua culpa!

Ao Sr. Celso, funcionário do departamento de segurança da FMVZ USP, por me fazer companhia e garantir minha proteção contra a terrível e tão temida 'Dona Cascuda', em plena madrugada véspera de Natal. Se não fosse a sua ajuda, com certeza o processamento das minhas amostras teria sido prejudicado.

Ao Laboratório de Inseminação Artificial, Perinatologia e Patologia da Reprodução (LIAPP), por ser o cenário de momentos de muito aprendizado, mesmo nas noites não dormidas por plantões ou partos. A Biazinha, que foi um feliz encontro que o LIAPP me deu. Obrigada pela sua amizade, sinceridade, conselhos e por toda ajuda que me deu durante esses últimos anos. À Lê, por sua amizade, todos os ensinamentos e por ser essa pessoa super gente boa, animada e que, assim como eu, adora um rolê com comida. À Jú, outra amiga que o LIAPP me deu, trabalhar com você foi um prazer, cada plantão ou atendimento que fizemos juntas, foi ainda mais especial devido a sua companhia. Ao João, pela amizade, companhia, ensinamentos e trocas que tivemos durante todos esses anos. Ao Dani, uma pessoa incrível, inteligente e que realmente se esforça para sempre ajudar. Dani, obrigada por todos os ensinamentos, orientações e ajuda. Ao Renatinho, pelos momentos animados e por ter me mostrado que, com humildade e empatia, podemos contribuir muito mais no aprendizado de alguém. Ao Beto e Maíra, por toda ajuda e explicações que me deram no início do meu mestrado. Agradeço também a todos os estagiários e alunas de iniciação científica que passaram pelo laboratório. LIAPPanos, saibam que vocês foram superimportantes para mim.

Aos funcionários da Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice, em especial a Sr.^a Maria e a Sr.^a Camila por serem tão solícitas e facilitarem a nossa vida enquanto estudantes. A Sr.^a Margareth (HOVET), por ser sempre tão simpática, por nossas conversas que ainda que rápidas, eu gostava muito e por cuidar tão bem da lavagem dos cobertores e todos tecidos que utilizamos durante os partos e/ou estadia das mães e filhotes no nosso laboratório. Ao Sr. Márcio (HOVET), por sempre me atender com educação e simpatia e ajudar na realização das radiografias.

Aos queridos Dr.^a Mariana Talib e Dr. Marcelo, do setor de obstetrícia do HOVET, por todos os partos – mesmo durante a madrugada –, todos ensinamentos, todas as conversas e risadas.

Ao Prof. Dr. Francisco Blazquez, por ter disponibilizado para uso o Laboratório de Anatomia Microscópica e Imuno-histoquímica para o processamento das amostras placentárias.

Ao Sr. Ronaldo, do laboratório de anatomia, por me emprestar incontáveis vezes o banho maria do seu laboratório, se não fosse isso eu demoraria no mínimo três vezes o tempo que precisei para produzir minhas lâminas.

À Prof.^a Dr.^a Claudia Fernandes, pelas aulas, animação toda vez que nos encontrávamos nos corredores e pelo empréstimo do agitador que facilitou a minha vida durante o processamento das amostras.

À Prof.^a Dr.^a Mariana Mattera, pelos ensinamentos acerca da placenta de várias espécies (especialmente a canina) e pelo suporte a técnica de estereologia.

À Prof.^a Dr.^a Tais Sasahara, por literalmente me salvar e esclarecer dúvidas sobre a técnica de estereologia com tanto carinho e paciência.

À Prof.^a Dr.^a Camila Vannucchi, eu agradeço do fundo do meu coração por ter aceitado me orientar no mestrado e ter aberto as portas do seu laboratório. Muito obrigada por todos os ensinamentos, incentivos e oportunidades que me ofereceu desde a graduação, quando em 2016, me aceitou para estágio no LIAPP.

À Prof.^a Dr.^a Liege Garcia, pela amizade, incentivo, conselhos e oportunidades que sempre me ofereceu. Nossa relação começou em 2015 e juntas, já vivemos muitas emoções. Serei eternamente grata por tudo que fez por mim.

Agradeço as minhas amigas Jô, Dani, Chris e Miriam, por me aguentarem falando horas e horas, por entenderem os motivos dos meus sumiços e serem minhas confidentes. Vocês são muito importantes para mim!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

*Sem vocês, nada disso seria possível,
muito obrigada!*

*“Pouco me importa aonde chegarei
ou quantos títulos terei;
mas sim, quantas lágrimas superei,
quantos sorrisos causei e
quantos ajudei.”*

Patrícia Marchetti

RESUMO

MARCHETTI, P. M. **Avaliação morfométrica e hemodinâmica da placenta canina e sua relação com o desempenho clínico neonatal no período adaptativo inicial.** 2022. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Nos animais eutérios, a placenta é o órgão materno-fetal transitório responsável por permitir a passagem de nutrientes e trocas gasosas entre a circulação materna e fetal. Disfunções placentárias estão relacionadas com desfechos perinatais desfavoráveis, tanto para a mãe como para o conceito, sendo a redução do fluxo sanguíneo útero-placentário a causa mais frequente de insuficiência placentária. O presente estudo teve como objetivos: comparar a hemodinâmica materno-fetal e feto-placentária ao longo da gestação de neonatos que apresentam alta ou baixa vitalidade imediata ao nascimento; comparar a morfologia placentária de neonatos de acordo com a vitalidade ao nascimento e correlacionar a morfo-funcionalidade vascular da placenta com o desempenho e êxito neonatal durante o período adaptativo inicial. Para tanto, foram selecionadas 13 cadelas gestantes, das quais 2 neonatos foram estudados, optando-se por aqueles localizados na extremidade cranial dos cornos uterinos. De acordo com o escore de vitalidade imediatamente ao nascimento, os neonatos foram alocados em dois grupos experimentais: grupo alta vitalidade neonatal (escore de vitalidade superior ou igual a 7, n=10) e Grupo baixa vitalidade neonatal (escore de vitalidade inferior a 7, n=12). Durante a gestação, foram realizadas avaliações ultrassonográficas das artérias uterina e umbilical e monitoramento da frequência cardíaca fetal. As placentas foram avaliadas macroscopicamente quanto ao aspecto geral, coloração, volume e medição da largura e comprimento da faixa zonária. Ademais, as placentas foram preparadas por amostragem sistemática, randômica e uniforme para a avaliação morfológica e morfométrica por estereologia. Os neonatos foram avaliados clinicamente e por saturação periférica de oxigênio ao nascer, aos 10 e 60 minutos de vida, além da lactatemia entre 1 e 5 minutos e 6 horas de vida. Os dados obtidos foram analisados considerando o teste T para comparação entre grupos e tempos (nas variáveis-respostas ultrassonográficas) e teste LSD para comparações entre tempos. As variáveis respostas foram também submetidas à análise de correlação de Pearson. O nível de significância foi de 5%. Nas avaliações ultrassonográficas, houve redução significativa da frequência cardíaca fetal à

eminência do parto, independente do grupo experimental. As placentas dos neonatos com alta vitalidade apresentaram maior quantidade de eritrócitos e menor quantidade de grânulos de hemossiderina nos hematomas marginais, maior quantidade de hematoidina na zona glandular e menor quantidade de coágulos na zona juncional. A área de superfície absoluta de contato materno fetal foi maior nas placentas do grupo alta vitalidade neonatal. Os neonatos com baixa vitalidade apresentaram menor peso e temperatura corpórea, mas houve aumento progressivo da saturação periférica de oxigênio até 60 minutos após o parto. Em conclusão, a hemodinâmica materno-fetal não influencia diretamente a vitalidade neonatal no período adaptativo inicial, a despeito da redução na frequência cardíaca fetal próxima ao nascimento. Entretanto, aspectos morfológicos e morfométricos da placenta influenciam a vitalidade neonatal e o desempenho clínico no período de transição inicial.

Palavras-chave: hemodinâmica, placenta, vitalidade neonatal, cadelas.

ABSTRACT

MARCHETTI, P. M. **Morphometric and hemodynamic evaluation of the canine placenta and its relationship with neonatal clinical performance in the early adaptive period** [Avaliação morfométrica e hemodinâmica da placenta canina e sua relação com o desempenho clínico neonatal no período adaptativo inicial]. 2022. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

In eutherian animals, the placenta is the transient maternal-fetal organ responsible for allowing the passage of nutrients and gas exchange between the maternal and fetal circulation. Placental dysfunctions are related to unfavorable perinatal outcomes for both the mother and the fetus, with reduced uteroplacental blood flow being the most frequent cause of placental insufficiency. The present study aimed to: compare maternal-fetal and fetal-placental hemodynamics throughout pregnancy in neonates who present high or low vitality immediately at birth; to compare placental morphology of neonates according to vitality at birth and to correlate placental vascular morpho-functionality with neonatal performance and success during the early adaptive period. For that, 13 pregnant bitches were selected, of which 2 neonates were studied, opting for those located at the cranial portion of the uterine horns. According to the vitality score immediately at birth, the neonates were allocated in two experimental groups: high neonatal vitality group (vitality score greater than or equal to 7, n=10) and low neonatal vitality group (vitality score less than 7, n=12). During pregnancy, ultrasound evaluations of the uterine and umbilical arteries and monitoring of fetal heart rate were performed. The placentas were macroscopically evaluated for general appearance, color, volume and measurement of the width and length of the zonary placental region. Furthermore, the placentas were prepared by systematic, random and uniform sampling for morphological and morphometric evaluation by stereology. The neonates were evaluated clinically and by peripheral oxygen saturation at birth, at 10 and 60 minutes of life, in addition to blood lactate levels between 1 and 5 minutes and 6 hours of life. The data obtained were analyzed considering the T test for comparison between groups and times (in the ultrasound response variables) and the LSD test for comparisons between times. The response variables were also submitted to Pearson's correlation analysis. The significance level was 5%. In the ultrasound evaluations, there was a significant reduction in fetal heart rate at the time of parturition, regardless of the experimental group. The placentas of neonates with high vitality had a greater

number of erythrocytes and a smaller amount of hemosiderin granules in the marginal hematomas, a greater amount of hematoidine in the glandular zone and a smaller quantity of clots in the junctional zone. The absolute surface area of maternal-fetal contact was higher in the placentas of the high neonatal vitality group. Neonates with low vitality had lower weight and body temperature, but there was a progressive increase in peripheral oxygen saturation up to 60 minutes after delivery. In conclusion, maternal-fetal hemodynamics do not directly influence neonatal vitality in the early adaptive period, despite the reduction in fetal heart rate close to birth. However, morphological and morphometric aspects of the placenta influence neonatal vitality and clinical performance in the initial transition period.

Keywords: hemodynamics, placenta, neonatal vitality, bitches.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	(A) Cornos uterinos expostos durante cesariana; (B) Neonatos ingerindo colostro	30
Figura 2 –	Delineamento experimental adotado para o presente experimento ...	32
Figura 3 –	(A) Fêmea matriz tricotomizada para realização de exame ultrassonográfico; (B) Frequência cardíaca fetal, durante a avaliação ultrassonográfica realizada aos 57 dias; (C) Imagem da topografia ultrassonográfica da artéria uterina; (D) Imagem da topografia ultrassonográfica da artéria umbilical	33
Figura 4 –	(A) Vista da face materna da placenta canina; (B) Vista da face fetal da placenta canina	35
Figura 5 –	(A) Faixa zonária inteira, sobreposta em folha de acetado; (B) Faixa zonária previamente seccionada com cortes equidistantes e paralelos de 02 cm de largura; (C) Processamento das amostras, blocos de parafina com as amostras de placenta; (D) Visualização da orientação do tecido dentro do bloco de parafina	36
Figura 6 –	Sistema teste para contagem de pontos sobreposto ao corte histológico de amostra placentária, em objetiva de menor aumento (2x)	38
Figura 7 –	Sistema contagem de pontos, sobreposto a fotomicrografia do labirinto placentário em objetiva de maior aumento (40x), para contagem dos pontos incidentes nos trofoblastos, vasos placentários, camada acelular, calcificações, área de inflamação, hematomas, necrose, hematóides e grânulos de hemossiderina	39
Figura 8 –	Sistema teste de arcos ciclóides sobreposto em fotomicrografia do labirinto placentário, em objetiva de maior aumento (40x)	40
Quadro 1 –	Escore de vitalidade neonatal adaptado à espécie canina, São Paulo, 2018	41
Figura 9 –	Média e erro padrão da frequência cardíaca (bpm) fetal mínima e máxima aos 57 dias de gestação e em pródromos do parto. *indica diferença estatística entre momentos de avaliação	43
Figura 10 –	(A) Face materna de placenta pertencente ao grupo alta vitalidade, apresentando fissuras por toda sua extensão; (B) Face materna de placenta pertencente ao grupo baixa vitalidade, apresentando fissuras por toda sua extensão; (C) Face fetal de placenta pertencente ao grupo alta vitalidade, apresentando coágulo; (D) Face fetal de placenta pertencente ao grupo baixa vitalidade, apresentando coágulo	45
Figura 11 –	Média e erro padrão do grau de intensidade (0 a 3) do aglomerado de eritrócitos e grânulos de hemossiderina nos hematomas marginais dos distintos grupos experimentais	47

Figura 12 – Média e erro padrão do grau de intensidade (0 a 3) do pigmento hematoídina na zona glandular da placenta nos distintos grupos experimentais	47
Figura 13 – Média e erro padrão do grau de intensidade (0 a 3) da malha de na zona juncional nos distintos grupos experimentais	48
Figura 14 – Média e erro padrão da área de superfície absoluta de contato materno-fetal nos distintos grupos experimentais	49
Figura 15 – Média e erro padrão do peso corpóreo (A) e temperatura corpórea dos neonatos dos distintos grupos experimentais.....	50
Figura 16 - Valores médios ± erro padrão da saturação periférica de oxigênio nos grupos alta vitalidade e baixa vitalidade neonatal ao longo do período experimental. a-bdiferença entre momentos de avaliação no mesmo grupo (P<0,05)	50
Figura 17 - Diagrama de correlação entre as variáveis experimentais do grupo alta vitalidade neonatal	53
Figura 18 - Diagrama de correlação entre as variáveis experimentais do grupo baixa vitalidade neonatal	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Composição dos grupos experimentais conforme a raça, peso e volume corpóreo materno	31
Tabela 2 -	Valores de probabilidade para o efeito da condição clínica neonatal (Alta vitalidade vs. Baixa vitalidade) e tempo (Ao nascimento vs. 10 minutos vs. 60 minutos) e sua interação para as variáveis neonatais	43
Tabela 3 -	Média e erro padrão das variáveis hemodinâmicas normalizadas ((cm/s) / cm ³) da artéria uterina nos diferentes grupos experimentais	44
Tabela 4 -	Média e erro padrão das variáveis hemodinâmicas normalizadas ((cm/s) / cm ³) da artéria umbilical nos diferentes grupos experimentais	44
Tabela 5 -	Média e erro padrão das variáveis hemodinâmicas normalizadas ((cm/s) / cm ³) da artéria uterina aos 57 dias de gestação e pródromos do parto	44
Tabela 6 -	Média e erro padrão das variáveis hemodinâmicas normalizadas ((cm/s) / cm ³) da artéria umbilical aos 57 dias de gestação e pródromos do parto	45
Tabela 7 -	Média ± erro padrão dos valores normalizados do peso, largura e comprimento da faixa zonária da placenta canina nos distintos grupos experimentais	46
Tabela 8 –	Valores médios ± erro padrão das variáveis histológicas da zona lamelar da placenta dos distintos grupos experimentais	48
Tabela 9 -	Valores médios normalizados ± erro padrão do peso, largura e comprimento da faixa zonária, nos grupos alta vitalidade neonatal e baixa vitalidade neonatal	49
Tabela 10 -	Valores de resultado (r) e nível de significância (p) da análise de correlação das variáveis hemodinâmicas das artérias uterina e umbilical do grupo alta vitalidade	52
Tabela 11 -	Valores de resultado (r) e nível de significância (p) da análise de correlação das variáveis hemodinâmicas das artérias uterina e umbilical do grupo baixa vitalidade neonatal	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Micrograma
µm	Micrômetro
2D	2 dimensões
3D	3 dimensões
ALTA	Grupo alta vitalidade
APGAR	Escore de vitalidade APGAR
BAIXA	Grupo baixa vitalidade
CALIBRE	Calibre médio dos vasos maternos e fetais
CEUA	Comissão de ética no uso de animais
cm	Centímetro
C _{tv}	Calibre médio total
ED	Velocidade diastólica final
FC	Frequência cardíaca
FC MAX	Frequência cardíaca máxima
FC MIN	Frequência cardíaca mínima
FR	Frequência respiratória
g	Gramas
HE	Hematoxilina-eosina
HM	Hematoma marginal
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IM	Intramuscular
IR	Irritabilidade reflexa
kg	Quilograma
LH	Hormônio Luteinizante
l _p	Comprimento do arco ciclóide
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mpm	Movimentos respiratórios por minuto
O ₂	Oxigênio

P	Nível de significância
PI	Índice de pulsatilidade
PS	Pico da velocidade sistólica
Pt _{plac}	Pontos incidentes sobre placenta inteira
Pt _{região}	Pontos incidentes sobre cada região placentária
PW	Doppler Pulsado
r	Resultado
RCIU	Restrição de crescimento intrauterino
RI	Índice de resistividade
S/D	Relação sístole/diástole
SC	Subcutâneo
SpO ₂	Saturação periférica de oxigênio
S _{surf}	Área de superfície absoluta
S _v	Densidade de superfície
TAMAX	Velocidade média de um ciclo cardíaco
Temp	Temperatura corpórea em graus celsius
USP	Universidade de São Paulo
VT _{est}	Volume total de cada estrutura
VT _{lab}	Volume total do labirinto
V _{total}	Volume total placentário
VTPLAC	Volume total placentário
VTRO	Contribuição volumétrica do trofoblasto
V _{tro}	Volume do trofoblasto
V _v	Fração de volume
V _{Vest}	Fração de volume de cada estrutura
ZJ	Zona juncional
ZL	Zona lamelar

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	20
2.	REVISÃO DE LITERATURA	22
	2.1.1. A PLACENTA NA ESPÉCIE CANINA	22
	2.1.2. HEMODINÂMICA MATERNO-FETAL.....	24
	2.1.3. IMPACTO DA INSUFICIÊNCIA PLACENTÁRIA NA VIABILIDADE NEONATAL	26
3.	HIPÓTESE	28
4.	OBJETIVOS	28
5.	MATERIAIS E MÉTODOS	29
	5.1. ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS	29
	5.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	31
	5.3. AVALIAÇÕES EXPERIMENTAIS	32
	5.3.1. Ultrassonografia gestacional em modo M, modo B e Doppler ...	32
	5.3.2. Avaliação morfológica placentária	34
	5.3.3. Análise estereológica placentária.....	37
	5.3.4. Avaliação neonatal	40
	5.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
6.	RESULTADOS	43
	6.1. ULTRASSONOGRAFIA GESTACIONAL EM MODO M, MODO B E DOPPLER	43
	6.2. AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA PLACENTÁRIA	45
	6.3. ANÁLISE ESTEREOLÓGICA PLACENTÁRIA	49
	6.4. AVALIAÇÃO NEONATAL	50
	6.5. ANÁLISES DE CORRELAÇÃO	51
	6.5.1. Grupo alta vitalidade	51
	6.5.2. Grupo baixa vitalidade	53
7.	DISCUSSÃO	56
8.	CONCLUSÕES	61
9.	REFERÊNCIAS	62

1. INTRODUÇÃO

Com a mudança no perfil social da população brasileira, os cães preencheram os lares como membros da família. Segundo a Pesquisa Nacional de Saúde (PNS, 2013) do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2013, a população de crianças de até 14 anos era de 44,9 milhões, enquanto a população de cães em domicílios no país era de 52,2 milhões. Portanto, no Brasil, há mais cães domiciliados do que crianças. O aumento da demanda de cães de diferentes raças foi um estímulo à profissionalização da cinofilia e, em consequência, à busca por sistemas de criação cada vez mais eficientes e rentáveis. Somado a isso, o vínculo emocional entre proprietários e seus cães é cada vez mais estreito, fazendo com que quaisquer estratégias de cuidado e tratamentos médicos sejam fomentadas. Neste contexto, o estudo mais profundo da Perinatologia, bem como de eventuais fatores adversos à saúde de matrizes e seus filhotes passa a ter grande importância e representatividade (PRATS, 2005).

A neonatologia é definida como a ciência que estuda os recém-nascidos e o período neonatal corresponde, em cães, aos 14 primeiros dias de vida (SILVA, 2008). No período neonatal, a taxa de mortalidade é alta. Até a fase de desmame, 30% dos filhotes vêm a óbito, sendo que a maior frequência de óbitos ocorre nas primeiras 72 horas de vida. Desta maneira, entende-se que o período adaptativo inicial é de extrema vulnerabilidade, levando-se a crer que intercorrências no periparto influem diretamente no êxito neonatal. Portanto, além dos problemas relativos ao momento do nascimento em si, destaca-se também anormalidades do desenvolvimento fetal e funcionalidade da placenta, tal como a insuficiência placentária (PRATS, 2005).

A placenta é um órgão materno-fetal transitório, responsável pela transferência de nutrientes, principalmente glicose, aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas e minerais e, realização das trocas gasosas entre a circulação materna e fetal. Sua estrutura varia em níveis macro e microscópicos de acordo com a espécie e tais estruturas placentárias resultam em distintos mecanismos de troca materno-fetal (BROLIO *et al.*, 2010). Classificada como endoteliocorial, em função do contato entre o endotélio vascular materno e o trofoblasto, a placenta canina é considerada zonária, anular completa e possui hematomas marginais de forma longilínea, localizados nas laterais da faixa zonária, perfazendo todo o contorno anular do órgão. Os hematomas marginais ocorrem por extravasamento de sangue materno, o qual acumula-se em

bolsas laterais ao anel trofoblástico e promovem o fornecimento de ferro ao feto (AMBRÓSIO *et al.*, 2004).

As disfunções placentárias estão relacionadas com desfechos perinatais desfavoráveis, tanto para a mãe quanto para o recém-nato. De fato, nos quadros de insuficiência placentária, há altas taxas de mortalidade e aumento do risco de complicações neonatais, tais como hipóxia neonatal, baixo peso ao nascimento, desnutrição fetal, hipocalcemia neonatal, hipotermia, policitemia e hemorragia pulmonar (NETO *et al.*, 2011; TIVANE *et al.*, 2013; GUIMARÃES *et al.*, 2015). Em humanos, é observado, inclusive, a maior ocorrência de sequelas neurológicas, incidência de doenças cardiovasculares e obesidade na vida adulta (MIYADAHIRA *et al.*, 2009).

As causas de insuficiência placentária são multifatoriais, entretanto, sabe-se que em humanos, estão relacionadas à hipertensão arterial, trombofilias e doenças autoimunes (FRANCISCO *et al.*, 2006), bem como redução do fluxo sanguíneo útero-placentário, considerada a causa mais frequente (DIAS, 2005). Por este motivo, durante o pré-natal em mulheres, é realizado acompanhamento obstétrico por ultrassonografia com auxílio da ferramenta Doppler, a qual classifica a insuficiência placentária em leve, progressiva e grave (TURAN *et al.*, 2008). Com base no diagnóstico e grau de comprometimento placentário, estabelece-se a periodicidade das avaliações de vitalidade fetal para, se necessário, iniciar protocolos de aceleração da maturidade pulmonar fetal e intervir em casos graves (FRANCISCO *et al.*, 2006 e TURAN *et al.*, 2008).

Em cães, apesar da ultrassonografia mostrar-se como excelente ferramenta no acompanhamento pré-natal e de viabilidade fetal, até o momento, não há estudos que correlacionem a vascularização e fluxo placentário com a viabilidade pós-natal. Da mesma maneira, a relação entre a morfo-funcionalidade da placenta e o desempenho durante a transição feto-neonatal também não é conhecida na espécie canina.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1.1. A PLACENTA NA ESPÉCIE CANINA

A placenta possui estrutura complexa, composta por vários elementos teciduais, especialmente o sangue em circulação e o trofoblasto (DELLMANN, 1982; REYNOLDS; REDMER, 2001; PRESTES E LANDIM-ALVARENGA, 2006; BROLIO *et al.*, 2010). O fluxo sanguíneo placentário é definido como corrente cruzada, porém os sangues materno e fetal não possuem contato direto, apenas aproximam-se na região de união entre o córion e o endométrio para a passagem de nutrientes e trocas gasosas (HAFEZ; HAFEZ, 2004). O trofoblasto ou epitélio coriônico é a camada mais externa da unidade feto placentária, com atuação na implantação embrionária, nutrição, trocas metabólicas e gasosas e proteção do conceito contra patógenos e o próprio sistema imune materno (BROLIO *et al.*, 2010; HYTTEL *et al.*, 2012).

Durante o processo de implantação embrionária, o trofoblasto sincicial invade o endométrio e a vascularização local, ocasionando extravasamento sanguíneo, o qual acumula-se formando a região dos hematomas marginais. Neste momento, inicia-se, também, a formação do labirinto placentário (ENDERS; CARTER, 2012). Em 1889, Lieberkühn descreveu os hematomas marginais como regiões compostas por cristais, pigmento verde granular e não celular, células granuladas, células de gordura esparsas, glóbulos redondos e massa marrom (LIEBERKÜHN, 1889). Os hematomas marginais da placenta são responsáveis por facilitar a captação de ferro pelo feto, por fagocitose, a partir das hemácias maternas. Na placenta canina, há dois hematomas marginais localizados na borda do labirinto placentário de coloração esverdeada (ENDERS; CARTER, 2012). A coloração particular é resultante do catabolismo da hemoglobina, por quebra do anel heme da heme oxigenase com liberação de ferro e geração da biliverdina (CARTER *et al.*, 2005). A biliverdina, então, é metabolizada em uteroverdina, sendo liberada no momento do parto, quando ocorre o descolamento placentário (LUZ, 2004).

Após seu completo desenvolvimento, o labirinto placentário é caracterizado por uma faixa de aspecto esponjoso, com coloração vermelho escuro e bordas esverdeadas (AMBRÓSIO *et al.*, 2004). Dividido histologicamente em zona lamelar, glandular e juncional, a região do labirinto placentário desempenha papel importante nas trocas fisiológicas entre mãe e feto (ARALLA *et al.*, 2013). Na zona lamelar, a

membrana interhemal é do tipo endoteliocorial. À medida que a gestação progride, o citotrofoblasto contribui para a formação do sinciciotrofoblasto e é gradualmente reduzido a células dispersas a partir de uma camada contínua. O sinciciotrofoblasto cobre os vasos maternos e geralmente é separado das células endoteliais dos capilares maternos por uma lâmina basal espessada - a membrana intersticial (LEISER; KOOB, 1993; ARALLA *et al.*, 2013; FURUKAWA *et al.*, 2014). A zona glandular é composta pelas glândulas endometriais profundas remanescentes e, em função da penetração no trofoblasto, obstruem e tornam-se distendidas por sua função secretora. Durante a gestação, a espessura da zona glandular diminui consideravelmente em consequência do aumento progressivo da zona lamelar, causando o deslocamento da zona juncional em direção ao organismo materno (LEISER; KOOB, 1993; FURUKAWA *et al.*, 2014). Por fim, a zona juncional é uma área de transição entre as zonas labiríntica e glandular, na qual sua parte mais profunda é chamada de zona esponjosa. A zona juncional é o local de encontro entre os tecidos materno e fetal, e intimamente misturam-se. Ainda, a zona juncional é a região de inserção das lamelas maternas, delimitando a intrusão do trofoblasto no estroma endometrial (DELLMANN, 1982; ARALLA *et al.*, 2013; FURUKAWA *et al.*, 2014).

Dada sua importância, a placenta é alvo de estudos em diversas espécies. Para tanto, amostras de tecido placentário são retiradas para análises realizadas por meio de inúmeras técnicas de investigação, incluindo amostragem de vilosidades coriônicas, cultura de explantes de vilosidades, cultura celular, análise proteômica, perfil de expressão gênica, morfologia e morfometria (MAYHEW, 2008). Com o uso da microscopia ótica, é possível caracterizar morfologicamente as regiões do labirinto placentário, a integridade dos hematomas marginais e identificar possíveis alterações morfológicas, conforme realizado por Ambrósio *et al.* (2009) e Costa (2015). Todavia, a avaliação microscópica tradicional é baseada no exame da placenta em duas dimensões (2D) e geralmente é uma análise subjetiva. Embora seja satisfatória para grande parte dos estudos com fins diagnósticos, apresenta muitas limitações nos estudos experimentais (OYEJIDE *et al.*, 2013). Para suprir tais limitações, é possível realizar a análise estereológica da placenta, a qual consiste em um subconjunto da morfometria com parâmetros em três dimensões (3D), permitindo avaliar volume, superfície, comprimento e número de células (OYEJIDE *et al.*, 2013). A morfometria placentária é uma técnica objetiva e acurada, possibilitando evidenciar marcadores

úteis do desenvolvimento placentário (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011; MARQUESA *et al.*, 2018).

2.1.2. HEMODINÂMICA MATERNO-FETAL

O período gestacional representa inúmeras adaptações fisiológicas maternas no intuito de possibilitar a manutenção e desenvolvimento da progênie. Dentre tais adaptações, a manutenção da perfusão uterina para o desenvolvimento fetal exige importantes alterações hemodinâmicas e do sistema cardiovascular (EGHBALI *et al.*, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2017). Tanto na medicina humana quanto na veterinária, sabe-se que complicações associadas a disfunção cardíaca materna, como tromboembolismo e pré-eclâmpsia, acarretam restrição de crescimento fetal, descolamento placentário prematuro, natimortalidade, entre outros (BORGES *et al.*, 2001; NOVELLI *et al.*, 2003; EGHBALI *et al.*, 2005). Em mulheres, o comprometimento extremo da hemodinâmica feto-placentária está relacionado a altas taxas de morbidade e mortalidade perinatal (GARAVAZZO, 2017).

No início da gestação canina, durante o desenvolvimento da placenta, a adaptação hemodinâmica materna já está presente, representada por aumento do débito cardíaco e da volemia e diminuição da resistência periférica e reatividade vascular (BORGES *et al.*, 2001). Entretanto, quando os mecanismos fisiológicos adaptativos à gestação não ocorrem adequadamente, instala-se a síndrome da má adaptação do organismo materno, a qual está associada à restrição de crescimento fetal. Destarte, a identificação de falhas adaptativas hemodinâmicas durante a gestação, principalmente por métodos não invasivos, contribui para o seguimento do pré-natal, mas também permite compreender as morbidades induzidas ou coincidentes à gestação (WALLENBURG, 1988).

O exame ultrassonográfico é um método não invasivo muito utilizado atualmente para diagnóstico precoce de gestação, monitoração da gestação, avaliação da viabilidade fetal e detecção de anormalidades gestacionais ou fetais (JARRETA, 2004; TEIXEIRA *et al.*, 2008). Quando o exame ultrassonográfico é realizado no modo Doppler, é possível avaliar o fluxo sanguíneo fetal (TORRES *et al.*, 2017), bem como realizar estudos hemodinâmicos do útero e do ovário (STEER *et al.*, 1990). Tais análises podem ser realizadas por meio da arquitetura vascular, do índice de resistividade e o volume ou velocidade do fluxo sanguíneo. Durante a formação do

sistema vascular uteroplacentário, há aumento da distensão e complacência vascular, levando à redução da resistência vascular periférica e aumento do débito cardíaco e volume sistólico, remodelação ventricular e alterações no sistema renina-angiotensina-aldosterona (ALMEIDA *et al.*, 2017). Em gestações caninas normais, é esperado que haja queda simultânea da resistência arterial uterina e pressão arterial e, quando tal relação está alterada, pressupõe-se a presença de anormalidade gestacional (BLANCO *et al.*, 2012). O aumento da resistência do fluxo sanguíneo placentário, evidenciado pela redução da velocidade diastólica nas artérias umbilicais, leva à insuficiência placentária (GARAVAZZO, 2017). Em estudo realizado com ovelhas, Reed *et al.* (1996) observaram, ao exame ultrassonográfico de vasos umbilicais e veia cava caudal dos fetos, que a velocidade de fluxo na veia umbilical é reflexo de anormalidade na hemodinâmica venosa central. Em estudos realizados com cadelas gestantes, constatou-se aumento significativo da velocidade diastólica final (ED) e velocidade de pico sistólico (PS) da aorta e veia cava caudal dos fetos, enquanto o índice de pulsatilidade e resistência diminui nos vasos fetais, artérias uteroplacentárias e cordão umbilical, exceto o índice de pulsatilidade da aorta fetal (DI SALVO *et al.*, 2006; SCOTTI *et al.*, 2008). Embora seja esperada diminuição na perfusão uterina por aumento na velocidade do pico sistólico e na velocidade diastólica final das artérias uteroplacentárias, na semana que antecede ao parto em cadelas, observa-se redução nas velocidades de fluxo sanguíneo (NAUTRUP, 1998).

Ao final da gestação em cadelas, a placenta passa por remodelação tecidual, reflexo do aumento contínuo de sua capacidade funcional para suportar a taxa exponencial de crescimento fetal. O transporte placentário de oxigênio e água, e a taxa de captação de glicose fetal, importantes para o desenvolvimento fetal, também aumentam consideravelmente no decorrer da gestação. Apesar do aumento da capacidade funcional da placenta, o peso placentário não sofre alteração, ao passo que a taxa de crescimento fetal está diretamente correlacionada ao desempenho placentário (REYNOLDS *et al.*, 2005). Estudos realizados com suínos e ovinos comprovam que o tamanho e peso fetal estão associados ao desenvolvimento vascular placentário e não diretamente ao peso da placenta (ARNOLD *et al.*, 2001; VONNAHME *et al.*, 2001). Para que o crescimento fetal aconteça de forma satisfatória, é fundamental que o fluxo sanguíneo uterino seja adequado. Portanto, na presença de fluxo sanguíneo deficitário e, por conseguinte, reduzida absorção fetal de oxigênio e nutrientes, espera-se diminuição na taxa de crescimento fetal e placentário

(REYNOLDS *et al.*, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2017). Destarte, para fornecer adequado fluxo sanguíneo uterino para o desenvolvimento placentário e fetal em cadelas, o volume sanguíneo deve aumentar a partir do 46º dia de gestação (PASCOE *et al.*, 2001).

Em mulheres, quando a invasão trofoblástica está ausente ou é inadequada, a resistência vascular uterina não diminui e as trocas materno-fetais fisiológicas ficam comprometidas, causando hipertensão e restrição de crescimento fetal (DIAS, 2005). Nos casos de insuficiência placentária grave em mulheres, observa-se diminuição do fluxo diastólico da artéria umbilical quando há 30% de comprometimento da vascularização dos vilos placentários e, diástole zero ou reversa, quando 60-70% da vascularização é afetada. De forma semelhante, em gestações caninas anormais, há interrupção do aumento da velocidade diastólica final e aumento do índice de resistividade na artéria uterina (BLANCO *et al.*, 2011).

2.1.3. IMPACTO DA INSUFICIÊNCIA PLACENTÁRIA NA VIABILIDADE NEONATAL

O período neonatal em cães corresponde aos 14 primeiros dias de vida, considerado uma fase crítica e com alta taxa de mortalidade (VANNUCCHI *et al.*, 2012). Segundo dados da Organização Mundial de Saúde em 2021, a taxa de mortalidade mundial de bebês foi de 1,7%, e 0,8% no Brasil. Por outro lado, estima-se que a taxa de mortalidade neonatal canina esteja entre 5,7% e 35% (PEREIRA, 2021).

A despeito da maior vulnerabilidade durante todo período neonatal, as primeiras 24-72 horas de vida são ainda mais delicadas à sobrevivência do neonato. Em função do período adaptativo durante a transição feto-neonatal, o recém-nascido precisa rápida e precisamente assumir funções vitais antes supridas pela placenta (LOURENÇO *et al.*, 2013). Por outro lado, nos casos de insuficiência placentária, a placenta não atinge a demanda fetal e instala-se uma grave complicação gestacional, associada a resultados perinatais adversos. Neste quadro, há redistribuição do fluxo sanguíneo na circulação fetal na tentativa de compensações hemodinâmicas e metabólicas fetais inerentes à insuficiência placentária (PARDI *et al.*, 1993; RESNIK, 2002; ALVINO *et al.*, 2008; BASCHAT, 2010; MAEDA *et al.*, 2010). A mudança nos padrões do fluxo sanguíneo decorrente da insuficiência placentária acarreta restrição

de crescimento intrauterino fetal – RCIU (BILLARDO *et al.*, 1990; KARSDORP *et al.*, 1994). Em mulheres, a RCIU é motivo de preocupação entre obstetras e neonatologistas, por haver alto risco de morbidade e mortalidade perinatal, levando a repercussões na vida adulta (NETO *et al.* 2011).

Desta maneira, a identificação de alterações placentárias durante o seguimento de pré-natal, bem como a adequada assistência neonatal, podem contribuir para a diminuição da morbimortalidade neonatal em cães.

3. HIPÓTESE

O desempenho clínico de neonatos caninos durante o período adaptativo inicial é influenciado pela morfo-funcionalidade da placenta.

4. OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivos:

- Comparar a hemodinâmica materno-fetal (artéria uterina) e feto-placentária (artéria umbilical) ao longo do terço final da gestação entre neonatos que apresentam alta ou baixa vitalidade imediata ao nascimento;
- Comparar a morfologia placentária entre neonatos que apresentam alta ou baixa vitalidade imediata ao nascimento;
- Correlacionar a morfo-funcionalidade vascular da placenta com o desempenho e êxito neonatal durante o período adaptativo inicial.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado obedecendo as normas para utilização de animais em pesquisa, estabelecidas pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos tutores e conforme protocolo de número 6414140819.

5.1. ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram selecionadas 13 cadelas gestantes, de raças e portes variados (peso corpóreo entre 10 e 60 kg), primíparas ou pluríparas, com idade entre 2 e 5 anos, oriundas de criações comerciais e proprietários particulares. Todas as fêmeas gestantes receberam alimentação comercial para cães de qualidade *super premium* em quantidade controlada de acordo com o peso prévio à gestação. Respeitando as restrições inerentes à própria gestação, a rotina das fêmeas não foi alterada, incluindo a liberação de atividades físicas. As fêmeas apresentaram cronograma de vacinação e vermifugação atualizados, além de histórico prévio de sanidade metabólica e reprodutiva. Como critério de exclusão, consideramos cadelas com sinais clínicos da síndrome braquiocefálica ou quaisquer distúrbios gestacionais.

As fêmeas foram acompanhadas durante toda a gestação e submetidas à cesariana eletiva, excluindo-se o parto cirúrgico emergencial. Para identificação do momento ideal para a intervenção cirúrgica, foram observados os sinais de pródromos do parto, caracterizados pela queda da temperatura retal ($< 37,5^{\circ}\text{C}$), queda da concentração de progesterona sérica ($< 2 \text{ ng/dL}$) e sinais clínicos de preparação do parto (Lucio, 2008). O protocolo anestésico adotado foi: tranquilização com tramadol (2 mg/kg) e acepromazina (0,02 mg/kg) por via intramuscular; indução anestésica com propofol (5 mg/kg) por via endovenosa lenta; bloqueio epidural no espaço intervertebral lombossacro com associação de morfina (0,01 mg/kg) e lidocaína (4 mg/kg); e manutenção com isoflurano na concentração de 1,0 a 1,3%. Após a anestesia, tricotomia e antissepsia da região abdominal, o útero foi acessado por celiotomia e, após exteriorização uterina, foi realizada a histerotomia para retirada dos filhotes (Figura 1A). A ruptura manual dos envoltórios fetais foi feita rapidamente,

seguida do clampeamento do cordão umbilical. Os filhotes foram, então, submetidos aos primeiros cuidados e avaliações. Após o nascimento de todos os filhotes, as fêmeas foram mantidas sob anestesia inalatória com isoflurano até a histero e celiorrafia. Todas as fêmeas foram medicadas no pós-operatório com cefalexina (30 mg/kg, BID) por cinco dias, cloridrato de tramadol (2 mg/kg, TID) e dipirona sódica (25 mg/kg, TID) por três dias.

Após a recuperação anestésica das fêmeas, os filhotes foram apresentados para reconhecimento materno e ingestão do colostro (Figura 1B).

Figura 1 – (A) Cornos uterinos expostos durante cesariana; (B) Neonatos ingerindo colostro



Fonte: MARCHETTI, P. M. (2022)

Ao total, foram selecionados 22 neonatos não meconiados, sem malformações congênicas e de ambos os sexos. No presente experimento, foram inclusos no máximo 2 filhotes por ninhada (de cada fêmea), sendo obrigatoriamente aqueles localizados na extremidade cranial dos cornos uterinos ao momento da histerotomia. O tempo entre a indução anestésica e a retirada de cada filhote do útero foi considerado e registrado, bem como o tempo entre a extração de cada um dos dois filhotes.

De acordo com o escore de vitalidade neonatal imediatamente ao nascimento, os filhotes foram alocados em dois grupos experimentais (Tabela 1):

- Grupo Alta Vitalidade Neonatal: escore de vitalidade superior ou igual a 7 no momento do nascimento (n=10);
- Grupo Baixa Vitalidade Neonatal: atribuído escore de vitalidade inferior a 7 no momento do nascimento (n=12).

Tabela 1 – Composição dos grupos experimentais conforme a raça, peso e volume corpóreo materno. São Paulo, 2022

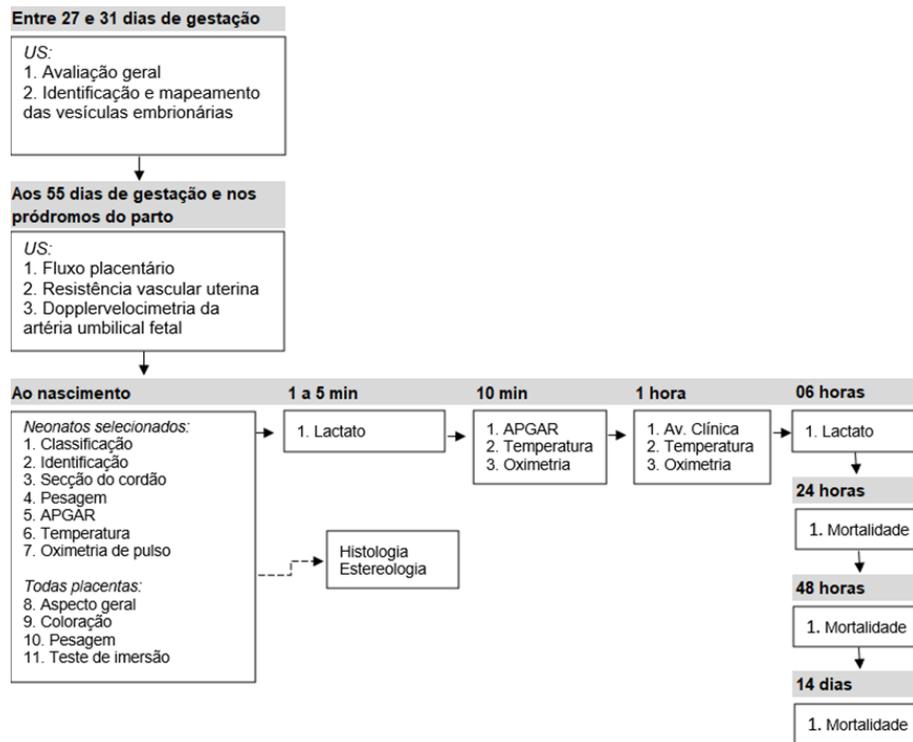
Grupo	Raça	Peso Materno (kg)	Volume Corpóreo (cm³)*
Alta vitalidade	Labrador	41,1	77408,84
	Labrador	41,1	77408,84
	Labrador	45,5	77408,84
	Terra Nova	60	218956,44
	Terra Nova	60	218956,44
	Bulldogue Inglês	22,6	123150,43
	Bulldogue Francês	10	18062,06
	Bulldogue Francês	10	18062,06
	Staffordshire Bullterrier	17,2	40715,04
	Bulldogue Francês	12,5	35889,55
	Bulldogue Inglês	19,5	77911,50
	Bulldogue Inglês	34,6	129852,50
	Bulldogue Inglês	34,6	129852,50
	Bulldogue Inglês	24	115191,73
	Spitz Alemão	11	24630,09
Baixa vitalidade	Spitz Alemão	11	24630,09
Baixa vitalidade	Staffordshire Bullterrier	23,2	83692,03
	Staffordshire Bullterrier	23,2	83692,03
	Staffordshire Bullterrier	17,2	40715,04
	Bulldogue Francês	12,5	35889,55
	American Bully	21,8	51840,47
	American Bully	21,8	51840,47

* volume corpóreo materno = $VC = \frac{4}{3} \times \pi \times W \times L \times C$

5.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A determinação das variáveis experimentais seguiu um padrão de repetições ao longo do tempo, em períodos previamente definidos (Figura 2).

Figura 2 – Delineamento experimental adotado para o presente experimento. São Paulo, 2022



Fonte: MARCHETTI, P. M. (2022)

5.3. AVALIAÇÕES EXPERIMENTAIS

5.3.1. Ultrassonografia gestacional em modo M, modo B e Doppler

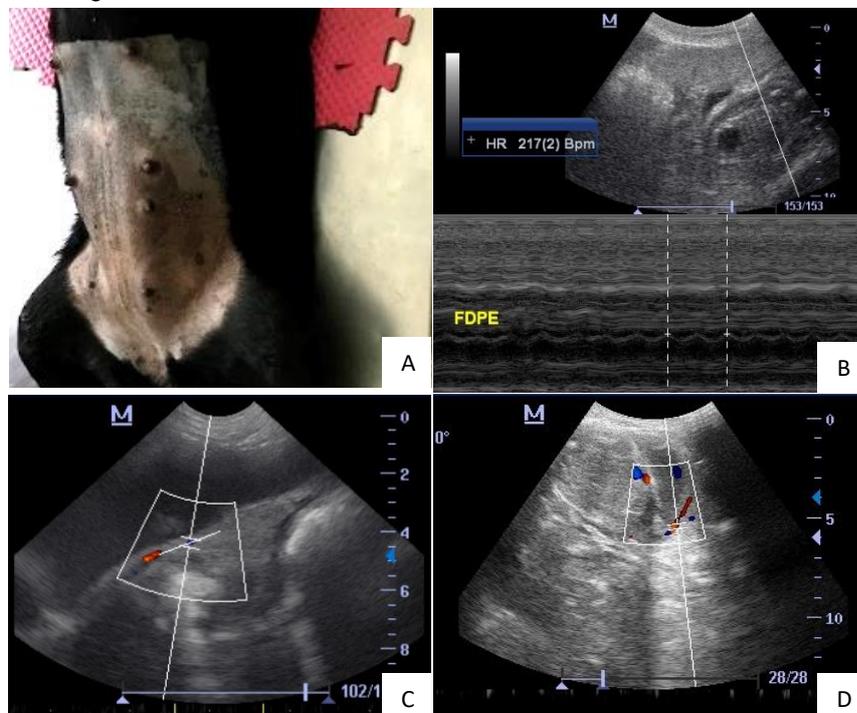
Para realização dos exames ultrassonográficos, foi necessário jejum alimentar de 4 a 6 horas. A fêmea foi posicionada de acordo com seu conforto respiratório em decúbito dorsal ou lateral e realizada a tricotomia da região do abdômen (Figura 3A). A avaliação foi realizada por via transabdominal utilizando gel condutor e equipamento da marca *Mindray*[®], modelo M5, equipado com transdutor convexo de 5,0 MHz.

As avaliações ultrassonográficas foram realizadas em três momentos distintos. A primeira avaliação ocorreu entre os 27 e 31 dias após o pico de LH, para o diagnóstico gestacional em modo B convencional, mapeamento da localização dos embriões, batimento cardíaco embrionário e visibilização da placenta, membrana vitelínica e alantoideana (NYLAND E MATTOON, 2004). As demais avaliações ultrassonográficas foram realizadas entre 55 e 57 dias de gestação e no momento da fase preparatória do parto (pródromos), por meio do Doppler Triplex, objetivando

averiguar a viabilidade gestacional e a hemodinâmica materno-fetal (FELICIANO *et al.*, 2007) e feto-placentária (FROES *et al.*, 2019).

Como forma de padronização, a varredura ultrassonográfica iniciou-se sempre pela região xifoide e seguiu em sentido horário até completar o formato de um círculo. O exame foi iniciado por avaliação bidimensional em modo-B convencional, com imagens em escala de cinza para localização anatômica. A frequência cardíaca fetal foi mensurada pela ecocardiografia em modo M, durante 10 minutos (Figura 3B). Em seguida, foram realizadas três avaliações da perfusão tecidual e velocidade do fluxo sanguíneo das artérias uterina e umbilical para gerar a média de cada feto selecionado. A avaliação da hemodinâmica materno-fetal foi feita pela mensuração da artéria uterina, em corte longitudinal e preferencialmente na região lateral do corpo uterino, utilizando a vesícula urinária como janela acústica (Figura 3C). Já a avaliação da hemodinâmica feto-placentária foi realizada por mensuração da artéria umbilical, em corte transversal da sua porção flutuante o mais próximo possível da placenta (Figura 3D).

Figura 3 – (A) Fêmea matriz tricotomizada para realização de exame ultrassonográfico; (B) Frequência cardíaca fetal, durante a avaliação ultrassonográfica realizada aos 57 dias; (C) Imagem da topografia ultrassonográfica da artéria uterina; (D) Imagem da topografia ultrassonográfica da artéria umbilical



Fonte: MARCHETTI, P. M. (2022)

Inicialmente, tais mensurações foram feitas com o uso do Doppler Colorido (CF, Colour-Flow Doppler) para mapeamento dos vasos e, posteriormente, foi utilizado o Doppler Pulsado ou Espectral (PW, Pulsed-Wave Doppler) para caracterizar a forma da onda. Foram utilizados como parâmetros da velocidade do fluxo sanguíneo, o pico de velocidade sistólica (PS), a velocidade diastólica final (ED) e a média das velocidades máximas de um ciclo cardíaco (TAMAX). Para calcular os índices hemodinâmicos, foram avaliados o índice de resistividade (RI), o índice de pulsatilidade (PI), e a relação sístole/diástole (S/D). Para tal, o método utilizado foi uma adaptação do descrito por Dias (2005), Veiga (2012) e Gardés (2018). Os índices foram calculados automaticamente pelo software do ultrassom, utilizando as seguintes fórmulas ou índice de Pourcelot:

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

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

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

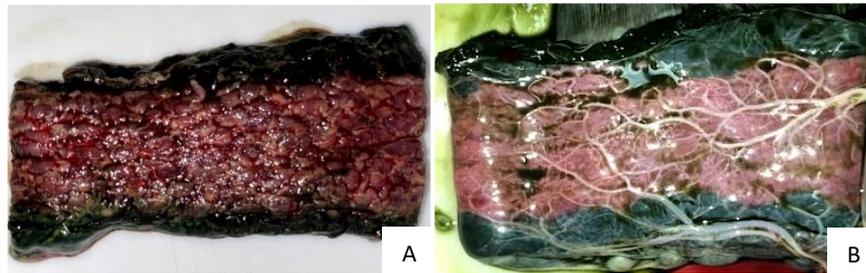
$$\text{Relação sístole / diástole} = \frac{\text{Velocidade do pico sistólico (PS)}}{\text{Velocidade ao fim da diástole (ED)}}$$

5.3.2. Avaliação morfológica placentária

Todas as placentas correspondentes aos neonatos selecionados foram analisadas às cegas (sem conhecimento prévio de qual grupo a respectiva placenta pertencia), sempre pelo mesmo avaliador.

As regiões do labirinto placentário, em suas face materna e fetal (Figura 4), e dos hematomas marginais foram avaliadas quanto ao aspecto geral e coloração. As mensurações de área, largura e comprimento da faixa zonária foram obtidas diretamente com auxílio de régua em poliestireno Dello de 30cm. Ainda, o peso placentário total foi obtido imediatamente após a remoção cirúrgica e após a disseção apenas da faixa zonária.

Figura 4 – (A) Vista da face materna da placenta canina; (B) Vista da face fetal da placenta canina

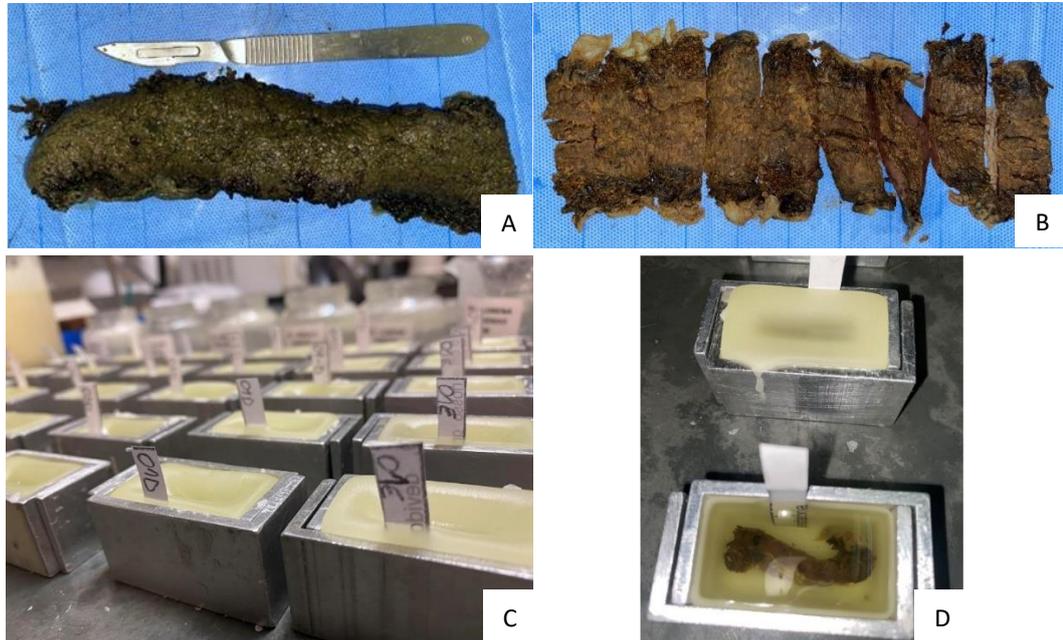


Fonte: MARCHETTI, P. M. (2022)

Sequencialmente, as placentas foram fixadas por imersão em formol 10%, em média por 36 horas e armazenadas em álcool 70%. Após a fixação, iniciou-se o processo de obtenção das amostras sistemáticas, randômicas e uniformes. Para tanto, a placenta foi colocada sobre superfície plana, sendo a face materna estabelecida como plano horizontal e, com auxílio de bisturi com lâmina nº 23 e um sistema de guia de linhas preparado em acetato (Figura 5A), a placenta foi seccionada perpendicularmente ao plano horizontal, gerando fragmentos equidistantes e paralelos de 2 cm (Figura 5B). Os fragmentos foram, então, amostrados de maneira a formarem dois conjuntos de fatias (A e B). O conjunto A foi armazenado em álcool 70% e o conjunto B foi novamente seccionado, porém formando fragmentos equidistantes e paralelos de 1 cm. Uma nova amostragem foi realizada, formando 2 novos conjuntos (BA e BB), sendo o conjunto BB selecionado como um novo conjunto de amostras representativas.

Os fragmentos foram, então, processados seguindo-se técnicas rotineiras, adotadas no Laboratório de Anatomia Microscópica e Imunohistoquímica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para inclusão em parafina e emblocadas (Figura 5C) tomando-se o cuidado para manter a adequada orientação do tecido (Figura 5D).

Figura 5 – (A) Faixa zonária inteira, sobreposta em folha de acetado; (B) Faixa zonária previamente seccionada com cortes equidistantes e paralelos de 02 cm de largura; (C) Processamento das amostras, blocos de parafina com as amostras de placenta; (D) Visualização da orientação do tecido dentro do bloco de parafina



Fonte: MARCHETTI, P. M. (2022)

Com auxílio de micrótomo rotativo (LEICA RM2265®), foi realizada a microtomia do tecido, sendo selecionado 1 corte histológico a cada 300 μm , com espessura de 6 μm , totalizando 4 cortes de cada bloco. Os cortes foram colocados em lâminas com extremidade fosca para microscopia e corados com a técnica de Hematoxilina e Eosina (LILLIE; FULMER, 1976).

As lâminas foram analisadas morfo-quantitativamente através da aplicação da técnica de microscopia de luz. A análise histológica teve como objetivo caracterizar a região dos hematomas marginais e labirinto placentário (zona glandular, zona juncional e zona lamelar) em suas faces materna e fetal e identificar a constituição celular e possíveis alterações morfológicas. Na região dos hematomas marginais, foram analisadas a intensidade das áreas com aglomerado de eritrócitos, presença de trombos vermelhos, células inflamatórias, grânulos de hemossiderina e hematoidina. Na região da zona glandular, foram analisadas a intensidade das áreas com necrose, hemorragia, glândulas endometriais, tecido conjuntivo frouxo, aglomerado de eritrócitos, malha de fibrina, trombos vermelhos, grânulos de hemossiderina, hematoidina, células trofoblásticas gigantes, células inflamatórias, calcificações e hemácias degeneradas. Na região da zona juncional, foram analisadas a intensidade das áreas com necrose, aglomerado de eritrócitos, trombos vermelhos,

malha de fibrina, grânulos de hemossiderina, hematoidina, células trofoblásticas gigantes, células inflamatórias, equinócitos, debris celulares, calcificações e hemácias degeneradas. Na região da zona lamelar, foram analisadas a intensidade das áreas com necrose, aglomerado de eritrócitos, trombos vermelhos e mistos, malha de fibrina, grânulos de hemossiderina, hematoidina, células trofoblásticas gigantes, células inflamatórias, calcificações, nós sinciciais, equinócitos, esquizócitos, diapedese de neutrófilos, picnose das células sinciciotrofoblásticas, tumefação das células citotrofoblásticas, hemácias degeneradas e extravasamento sanguíneo.

Para mensuração da intensidade dos achados, atribuiu-se o escore de 0 a 3, sendo o escore 0 – ausente; escore 1 – discreto; escore 2 – moderado; e escore 3 – acentuado. A nomenclatura utilizada foi referida conforme estabelecido pelo International Committee on Veterinary Histological Nomenclature (2017).

5.3.3. Análise estereológica placentária

O volume total placentário (V_{total} , cm^3) foi determinado pelo princípio de Arquimedes (MANDARIM-DE-LACERDA, 1994). Para tal, a placenta inteira foi submersa em proveta com volume conhecido (100 mL de água) e o fluido deslocado foi considerado equivalente ao volume da placenta imersa.

Para determinar a densidade específica, o peso (g) de cada placenta, obtido com o auxílio de balança digital (SF-400®), foi dividido pelo volume total placentário (V_{total} , cm^3), previamente estimado.

A fração de volume (V_v , %) da região dos hematomas marginais, labirinto placentário e, quando presente, zona juncional, foi estimada pelo método de contagem de pontos (HOWARD; REED, 2005). Para tanto, as lâminas foram escaneadas com auxílio do equipamento OLYMPUS BX61VS®, em objetiva de menor aumento (2x), de modo que o corte histológico inteiro pudesse ser analisado em uma única imagem (Figura 6). O software Image J (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>) foi utilizado para gerar o sistema teste de pontos, com área de 4 mm^2 associada a cada ponto e, sobreposto nos cortes orientados verticalmente. Os pontos incidentes sobre cada região placentária ($P_{t_{região}}$) e sobre a placenta inteira ($P_{t_{plac}}$) foram somados e a fração de volume (V_v , %) de cada região placentária foi estimada usando-se a equação (A):

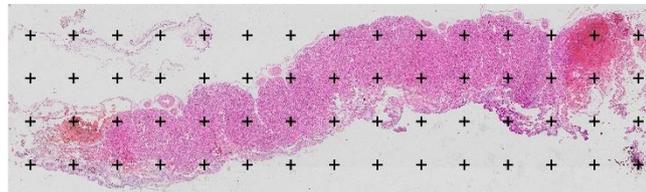
$$(A) Est V_{V_{região}} = \frac{\sum Pt_{região}}{\sum Pt_{plac}}$$

onde, $\sum Pt_{região}$ e $\sum Pt_{plac}$ são a soma de todos os pontos incidentes em todos os cortes de cada placenta.

Posteriormente, o volume total de cada região placentária ($VT_{região}$, cm^3) foi estimado pela multiplicação da fração de volume (V_V , %) de cada região pelo volume total da placenta (VT_{plac} , cm^3), conforme a equação (B):

$$(B) Est VT_{região} = V_V \times VT_{plac}$$

Figura 6 – Sistema teste para contagem de pontos sobreposto ao corte histológico de amostra placentária, em objetiva de menor aumento (2x)



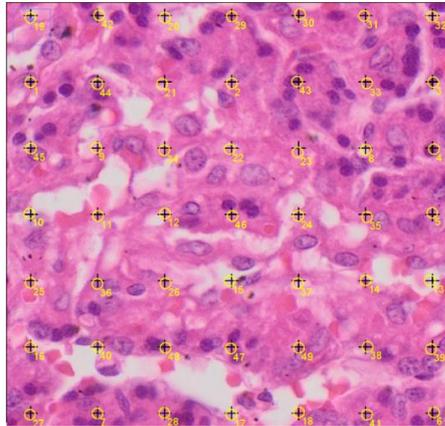
Fonte: MARCHETTI, P. M. (2022)

Para análise mais acurada do labirinto, região na qual ocorre maior troca materno-fetal, foram selecionadas randomicamente, 10 fotomicrografias do labirinto, utilizando objetiva de aumento de 40x (MAYHEW, 2003). Sobre estas fotomicrografias, foi colocado um sistema com 490 pontos por placenta (Figura 7) e realizada a contagem, para que seja possível estimar a contribuição volumétrica dos trofoblastos, vasos placentários, camada acelular, calcificações, área de inflamação, hematomas, necrose, hematoidina e grânulos de hemossiderina. Para tal, a fração de volume de cada estrutura ($V_{V_{est}}$) foi obtida utilizando a equação a seguir:

$$(C) Est V_{V_{est}} = \frac{\sum Pt_{est}}{\sum Pt_{lab}}$$

onde, $\sum Pt_{est}$ é a soma dos pontos incidentes em cada estrutura e $\sum Pt_{lab}$ é a soma de todos os pontos incidentes sobre o labirinto placentário.

Figura 7 – Sistema contagem de pontos, sobreposto a fotomicrografia do labirinto placentário em objetiva de maior aumento (40x), para contagem dos pontos incidentes nos trofoblastos, vasos placentários, camada acelular, calcificações, área de inflamação, hematomas, necrose, hematoidina e grânulos de hemossiderina



Fonte: MARCHETTI, P. M. (2022)

Em seguida, o volume total de cada estrutura (VT_{est}) foi estimado pela multiplicação da fração de volume de cada estrutura (V_{Vest}) pelo volume total do labirinto (VT_{lab}), conforme equação a seguir:

$$(D) Est VT_{est} = V_{Vest} \times VT_{lab}$$

Para estimar a área de superfície de contato materno-fetal, foi necessário obter a densidade de superfície (S_V) vascular do labirinto placentário. Para tal, utilizou-se o sistema teste de arcos ciclóides sobreposto em 10 fotomicrografias do labirinto de cada placenta (Figura 8), obtidas randomicamente em objetiva de 40x (BADDELEY *et al.*, 1986; COAN *et al.*, 2004). Os pontos de intersecção entre os arcos testes e o endotélio vascular materno e fetal foram somados e o resultado foi inserido na formula a seguir:

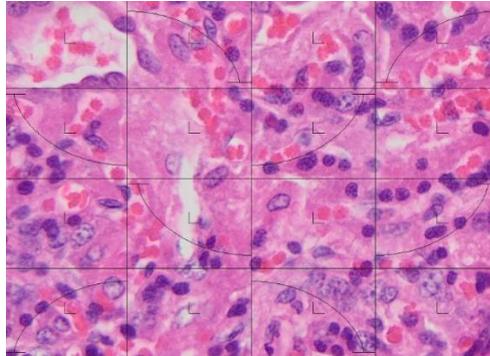
$$(E) S_V = \frac{(\sum_{intersec} \times 2)}{l_p \times \sum P_t}$$

onde, $\sum_{intersec}$ é a somatória dos pontos de intersecção entre os arcos ciclóides e o endotélio vascular materno e fetal, l_p é o comprimento do arco ciclóide (22,64 μm na escala da imagem), associado a cada ponto e $\sum P_t$ é a soma de todos os pontos que incidem sobre o labirinto.

Determinada a densidade de superfície, foi possível estimar a área de superfície absoluta (S_{surf} , cm^3), multiplicando a densidade de superfície (S_V) pelo volume total do labirinto (VT_{lab}), conforme equação a seguir:

$$(F) S_{surf} = S_V \times VT_{lab}$$

Figura 8 – Sistema teste de arcos ciclóides sobreposto em fotomicrografia do labirinto placentário, em objetiva de maior aumento (40x)



Fonte: MARCHETTI, P. M. (2022)

Para análise da espessura da barreira interhemal (T_a), seguiu-se procedimento descrito por Veras (2008) e Coan *et.al.* (2004), a partir do volume do trofoblasto (V_{tro}) e da área de superfície vascular materna e fetal (S_{surf}), utilizando a equação a seguir:

$$(G) T_a = \frac{2 \times V_{tro}}{S_{surf}}$$

Considerando que os capilares fetais e maternos representam uma rede de cilindros circulares, a partir do volume total vascular (VT_{vas}) e da área de superfície vascular (S_{surf}), foi possível estimar o calibre médio total (C_{tvas}) dos vasos de cada placenta como forma de se avaliar o volume vascular, utilizando a equação a seguir:

$$(H) C_{tvas} = \frac{4 \times VT_{vas}}{S_{surf}}$$

5.3.4. Avaliação neonatal

Imediatamente após o nascimento, cada neonato foi classificado (vivo, natimorto e sexo) e identificado numericamente de acordo com a respectiva placenta. A mortalidade foi considerada e registrada quando ocorria imediata ao parto (natimortalidade), em 24, 48 horas e ao final do período neonatal, correspondente aos primeiros 14 dias de vida.

Ao exame físico, foram avaliados o peso corpóreo, temperatura retal e a vitalidade neonatal, por escore adaptado à Medicina Veterinária (Quadro 1). Tal avaliação foi realizada ao nascer, 10 e 60 minutos de vida.

Quadro 1- Escore de vitalidade neonatal adaptado à espécie canina, São Paulo, 2018

VARIÁVEL	ESCORE		
	0	1	2
Frequência Cardíaca	Ausente	Presente, porém bradicárdica (< 200 bpm)	Presente e normal (120 - 220 bpm)
Frequência respiratória	Ausente	Irregular (< 15 mpm)	Regular e vocalização (15 - 40 mpm)
Tônus muscular	Flacidez	Alguma flexão	Flexão
Irritabilidade Reflexa	Ausente	Algum movimento	Hiperatividade
Coloração de mucosas	Cianose e palidez	Cianose	Rósea

Foram realizadas as avaliações lactatêmicas a partir de amostras colhidas da veia jugular, com uso de agulhas (24G) e seringas de 1 mL estéreis e descartáveis, imediatamente depositadas no aparelho de dosagem de lactato sanguíneo (Accutrend® Lactate, Roche Diagnóstica). A colheita das amostras sanguíneas foi realizada entre 1-5 minutos de vida, após avaliação clínica inicial e 6 horas após o nascimento. As concentrações de lactato foram expostas em mmol/L de sangue e foram adotados os seguintes valores de referência conforme Silva (2008) e Castagnetti et al. (2017): 6,65 - 8,87 mmol/L (até 5 minutos de vida) e 2,9 - 3,1 mmol/L (às 6 horas de vida).

Foram procedidas avaliações da saturação periférica de oxigênio (SpO₂, %) por meio de oximetria de pulso, utilizando oxímetro neonatal OxiMax N65®, aplicado à face interna da coxa, sob a topografia da artéria femoral. As avaliações ocorreram logo após nascimento, aos 10 e 60 minutos de vida. Para avaliação do resultado, foram adotados os seguintes valores de referência, conforme o descrito por Branco et al. (2011): 70 - 80% (ao nascimento), 80 - 90% (aos 10 minutos) e acima de 90% (aos 60 minutos).

5.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as variáveis dependentes do porte das matrizes, por exemplo, peso da placenta, dimensões placentárias, volume de fluxo sanguíneo da artéria umbilical e uterina e peso corpóreo neonatal, foi realizado cálculo de normalização de tais variáveis, considerando-se o volume corpóreo da matriz, conforme a seguinte equação, adaptada de Bailey *et al.* (1998):

$$VC = \frac{4}{3} \times \pi \times W \times L \times C$$

Onde, VC é o volume corpóreo materno, W é a distância (cm) entre as articulações escápulo-umeral direita e esquerda, L é a distância (cm) entre a borda dorsal da escápula e o mediastino inferior do esterno na altura da silhueta cardíaca e C é a distância (cm) entre a articulação escápulo-umeral e a tuberosidade isquiática ipsilateral.

Os dados obtidos foram analisados utilizando o software SAS para Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). O efeito dos grupos experimentais, momentos de avaliação, bem como a interação entre tais fatores, foram estimados pelo PROC GLM. Através do aplicativo Guided Data Analysis, os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos (distribuição normal) e homogeneidade das variâncias. Quando não obedeceram a tais premissas, foram transformados e quando a normalidade não for obtida, empregou-se, então, o procedimento NPAR1WAY de análise de variância não paramétrica.

As variáveis foram analisadas segundo o PROC MIXED por medidas repetidas no tempo. As diferenças entre os grupos foram analisadas utilizando o teste t de Student (variáveis paramétricas) e o teste de Wilcoxon (variáveis não paramétricas). O teste LSD foi utilizado para comparar as diferenças ao longo do tempo. As variáveis respostas foram também submetidas à análise de correlação de Pearson. O nível de significância utilizado foi de 5%. Os resultados foram descritos como média \pm erro padrão.

6. RESULTADOS

Foi observada interação significativa ($p < 0,05$) entre os grupos experimentais (alta vitalidade vs. baixa vitalidade) e os momentos de avaliação (nascimento vs. 10 minutos vs. 60 minutos) apenas para variável saturação periférica de oxigênio (Tabela 2). Não foram observadas interações estatísticas para as demais variáveis, sendo portanto, os resultados expressos considerando o efeito do grupo experimental separadamente ao efeito do momento de avaliação.

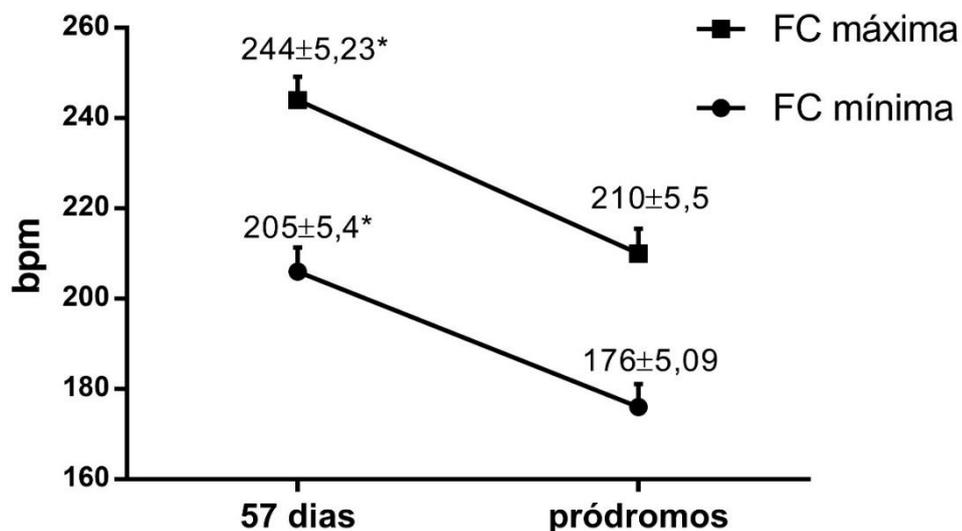
Tabela 2 - Valores de probabilidade para o efeito da condição clínica neonatal (Alta vitalidade VS. Baixa vitalidade) e momento de avaliação (nascimento VS. 10 minutos VS. 60 minutos) e sua interação para a saturação periférica de oxigênio neonatal. São Paulo, 2022

Variáveis	Grupo	Tempo	Grupo X Tempo
Saturação periférica de oxigênio neonatal	0.25	0.03	0.05

6.1. ULTRASSONOGRAFIA GESTACIONAL EM MODO M, MODO B E DOPPLER

Não foi observada diferença estatística da frequência cardíaca fetal entre os grupos experimentais ($P=0,17$ e $P=0,38$, respectivamente). Porém, observamos redução significativa da frequência cardíaca fetal mínima ($P=0,0002$) e máxima ($P < 0,0001$) no pródromos do parto, em comparação à avaliação realizada aos 57 dias de gestação (Figura 9), independente do grupo experimental.

Figura 9 – Média e erro padrão da frequência cardíaca (bpm) fetal mínima e máxima aos 57 dias de gestação e em pródromos do parto. *indica diferença estatística entre momentos de avaliação. São Paulo, 2022



As demais variáveis hemodinâmicas da artéria uterina e umbilical não diferiram entre os grupos experimentais (Tabela 3 e 4, respectivamente) e momentos de avaliação (Tabela 5 e 6, respectivamente).

Tabela 3 - Média e erro padrão das variáveis hemodinâmicas normalizadas (cm/s) / cm³ da artéria uterina nos diferentes grupos experimentais. São Paulo, 2022

Variáveis	Grupo Alta Vitalidade	Grupo Baixa Vitalidade	P
Pico da velocidade sistólica	0,002 ± 0,0006	0,001 ± 0,0003	0,55
Velocidade diastólica final	0,0009 ± 0,0003	0,0006 ± 0,0001	0,99
Velocidade média de um ciclo cardíaco	0,001 ± 0,0003	0,001 ± 0,0002	0,77
Índice de pulsatilidade	0,00002 ± 3,61	0,00002 ± 2,77	0,26
Índice de resistividade	0,00001 ± 2,34	0,00001 ± 1,62	0,67
Relação sístole/diástole	0,00005 ± 9,23	0,00006 ± 7,21	0,35

Tabela 4 - Média e erro padrão das variáveis hemodinâmicas normalizadas (cm/s) / cm³ da artéria umbilical nos diferentes grupos experimentais. São Paulo, 2022

Variáveis	Grupo Alta Vitalidade	Grupo Baixa Vitalidade	P
Pico da velocidade sistólica	0,001 ± 0,0003	0,001 ± 0,0001	0,52
Velocidade diastólica final	0,0003 ± 0,00008	0,0003 ± 0,00005	0,83
Velocidade média de um ciclo cardíaco	0,0007 ± 0,0001	0,0007 ± 0,0001	0,49
Índice de pulsatilidade	0,00003 ± 6,09	0,00002 ± 2,81	0,88
Índice de resistividade	0,00001 ± 3,37	0,00001 ± 1,72	0,90
Relação sístole/diástole	0,00008 ± 0,00001	0,00007 ± 0,00001	0,80

Tabela 5 - Média e erro padrão das variáveis hemodinâmicas normalizadas (cm/s) / cm³ da artéria uterina aos 57 dias de gestação e pródromos do parto. São Paulo, 2022

Variáveis	57 dias	Pródromos	P
Pico da velocidade sistólica	0,002 ± 0,0005	0,001 ± 0,0004	0,54
Velocidade diastólica final	0,0007 ± 0,0002	0,0007±0,0002	0,73
Velocidade média de um ciclo cardíaco	0,001 ± 0,0003	0,001 ± 0,0003	0,66
Índice de pulsatilidade	0,00002 ± 3,76	0,00002 ± 2,60	0,85
Índice de resistividade	0,00001 ± 2,31	0,00001±1,64	0,80
Relação sístole/diástole	0,00006 ± 9,40	0,00005 ± 6,99	0,65

Tabela 6 - Média e erro padrão das variáveis hemodinâmicas normalizadas (cm/s) / cm³ da artéria umbilical aos 57 dias de gestação e pródromos do parto. São Paulo, 2022

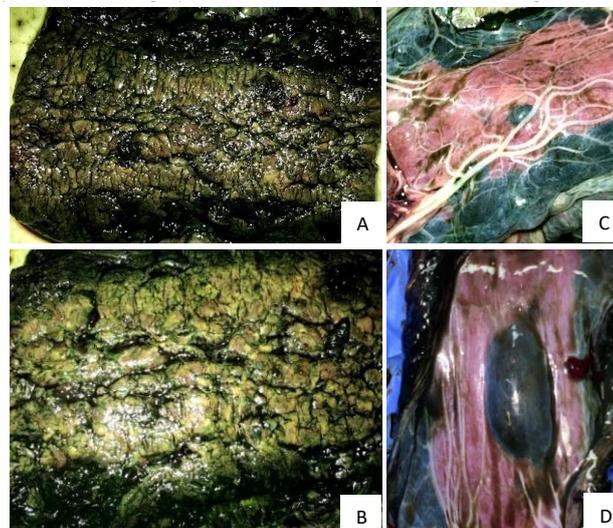
Variáveis	57 dias	Pródromos	P
Pico da velocidade sistólica	0,001 ± 0,0002	0,001 ± 0,0002	0,47
Velocidade diastólica final	0.0003 ± 0,00006	0,0003 ± 0,00007	0,49
Velocidade média de um ciclo cardíaco	0,0006 ± 0,0001	0,0007 ± 0,0001	0,62
Índice de pulsatilidade	0,00002 ± 3,93	0,00002 ± 4,81	0,72
Índice de resistividade	0,00001 ± 2,38	0,00001 ± 2,59	0,87
Relação sístole/diástole	0,00008 ± 0,00001	0,00007 ± 0,00001	0,90

6.2. AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA PLACENTÁRIA

Foi possível distinguir com facilidade a região do labirinto placentário em suas faces materna e fetal e a região dos hematomas marginais, os quais estavam presentes bilateralmente em todas as placentas, de coloração esverdeada.

A face materna da região do labirinto placentário apresentou aspecto esponjoso. No grupo alta vitalidade, 2 placentas (2/10) apresentaram fissuras em toda sua extensão (Figura 10A) e coágulos, duas placentas (2/10) apresentaram secreções, sendo 1 placenta (1/10) de coloração amarronzada e 1 placenta (1/10) de coloração esverdeada.

Figura 10 – (A) Face materna de placenta pertencente ao grupo alta vitalidade, apresentando fissuras por toda sua extensão; (B) Face materna de placenta pertencente ao grupo baixa vitalidade, apresentando fissuras por toda sua extensão; (C) Face fetal de placenta pertencente ao grupo alta vitalidade, apresentando coágulo; (D) Face fetal de placenta pertencente ao grupo baixa vitalidade, apresentando coágulo



Fonte: MARCHETTI, PM (2022)

No grupo baixa vitalidade, 5 placentas (5/12) apresentaram fissuras (Figura 10B) e 1 placenta (1/12) apresentou secreção de coloração amarronzada. No grupo alta vitalidade, em 4 placentas (4/10), a face materna do labirinto apresentou cor vermelho escuro, 2 placentas (2/10) vermelho claro, 1 placenta (1/10) marrom, 1 placenta (1/10) preta e 1 placenta (1/10) verde.

No grupo baixa vitalidade, 4 placentas (4/12) apresentaram cor vermelho escuro, 6 placentas (6/12) vermelho claro, 1 placenta (1/12) preta e 1 placenta (1/12) verde. Na face fetal do grupo alta vitalidade, 1 placenta (1/10) apresentou coágulos (Figura 10C), 5 placentas (5/10) apresentaram coloração vermelho escuro e 5 placentas (5/10) apresentaram coloração vermelho claro. Enquanto no grupo baixa vitalidade, 1 placenta (1/12) apresentou coágulos (Figura 10D), 5 placentas (5/12) apresentaram coloração vermelho escuro e 5 placentas (7/12) apresentaram coloração vermelho claro.

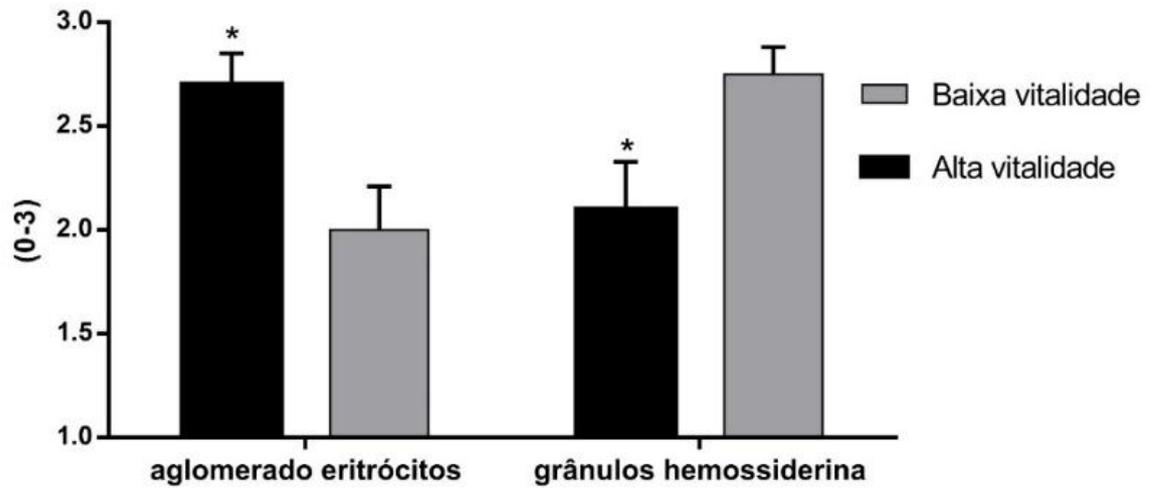
Não houve diferença estatística entre os grupos experimentais para o peso, largura e comprimento da faixa zonária das placentas (Tabela 7).

Tabela 7 – Média \pm erro padrão dos valores normalizados do peso, largura e comprimento da faixa zonária da placenta canina nos distintos grupos experimentais. São Paulo, 2022

Variáveis	Grupo Alta Vitalidade	Grupo Baixa Vitalidade	P
Peso (g/cm ³)	0.0007 \pm 0.0001	0.0004 \pm 0.00005	0.23
Largura (cm/cm ³)	0.0001 \pm 0.00002	0.00009 \pm 0.00001	0.94
Comprimento (cm/cm ³)	0.0001 \pm 0.00004	0.0001 \pm 0.00001	0.38

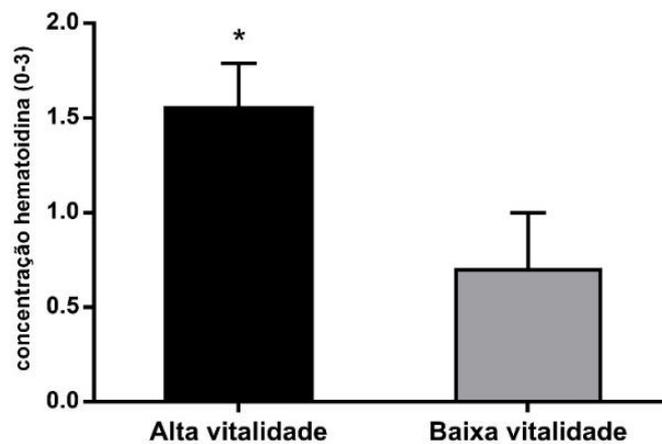
Na região dos hematomas marginais, as placentas do grupo alta vitalidade apresentaram maior grau de intensidade de aglomerados de eritrócitos (P=0,01) e menor grau de intensidade de grânulos de hemossiderina (P=0,01), em comparação ao grupo baixa vitalidade (Figura 11).

Figura 11 – Média e erro padrão do grau de intensidade (0 a 3) do aglomerado de eritrócitos e grânulos de hemossiderina nos hematomas marginais dos distintos grupos experimentais. São Paulo, 2022



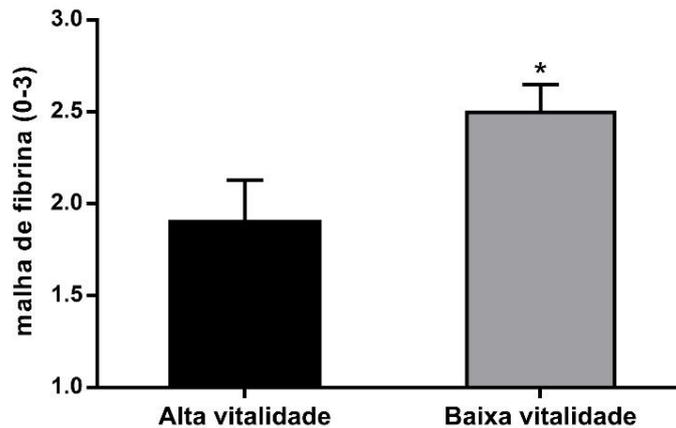
Na região da zona glandular, as placentas do grupo alta vitalidade apresentaram maior concentração do pigmento hematoidina, quando comparadas ao grupo baixa vitalidade (Figura 12).

Figura 12 – Média e erro padrão do grau de intensidade (0 a 3) do pigmento hematoidina na zona glandular da placenta nos distintos grupos experimentais. São Paulo, 2022



Na região da zona juncional das placentas, foi observada menor concentração de malha de fibrina no grupo alta vitalidade, quando comparada ao grupo baixa vitalidade (Figura 13).

Figura 13 – Média e erro padrão do grau de intensidade (0 a 3) da malha de fibrina na zona juncional nos distintos grupos experimentais. São Paulo, 2022



Na região da zona lamelar das placentas, não houve diferença significativa entre o grupo alta e baixa vitalidade nos distintos atributos avaliados (Tabela 8).

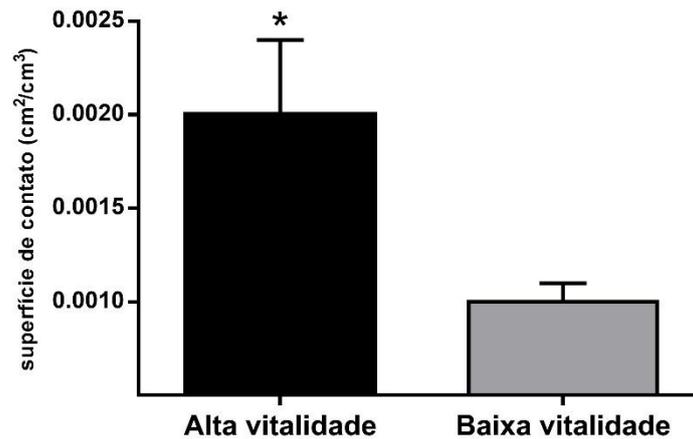
Tabela 8 - Valores médios \pm erro padrão das variáveis histológicas da zona lamelar da placenta dos distintos grupos experimentais. São Paulo, 2022

VARIÁVEL	Grupo Alta Vitalidade	Grupo Baixa Vitalidade	P
Necrose	0,80 \pm 0,20	0,75 \pm 0,27	0,88
Aglomerado de eritrócitos	2,60 \pm 0,22	2,25 \pm 0,17	0,22
Trombos vermelhos	1,20 \pm 0,24	1,25 \pm 0,27	0,89
Trombos mistos	0,60 \pm 0,26	0,91 \pm 0,31	0,46
Malha de fibrina	2,20 \pm 0,13	2,25 \pm 0,21	0,85
Grânulos de hemossiderina	1,90 \pm 0,27	1,25 \pm 0,21	0,07
Hemotoidina	1,40 \pm 0,26	1,58 \pm 0,25	0,63
Células trofoblásticas gigantes	0,30 \pm 0,15	0,41 \pm 0,19	0,65
Células inflamatórias	2,00 \pm 0,29	2,16 \pm 0,24	0,66
Calcificações	1,70 \pm 0,26	2,25 \pm 0,25	0,14
Nó sincial	1,70 \pm 0,26	2,16 \pm 0,20	0,17
Equinócitos	1,20 \pm 0,29	0,91 \pm 0,14	0,37
Esquizócitos	0,80 \pm 0,20	0,33 \pm 0,14	0,06
Diapedese de neutrófilos	1,10 \pm 0,23	1,41 \pm 0,25	0,38
Picnose das células sinciotrofoblásticas	1,70 \pm 0,21	2,25 \pm 0,17	0,06
Tumefação das células citotrofoblásticas	1,60 \pm 0,16	1,75 \pm 0,21	0,60
Hemácias degeneradas	1,90 \pm 0,17	2,25 \pm 0,17	0,18
Extravasamento sanguíneo	1,00 \pm 0,39	0,16 \pm 0,11	0,06

6.3. ANÁLISE ESTEREOLÓGICA PLACENTÁRIA

A área de superfície absoluta de contato materno-fetal foi maior ($P=0,02$) no grupo alta vitalidade, em comparação ao grupo baixa vitalidade (Figura 14).

Figura 14 – Média e erro padrão da área de superfície absoluta de contato materno-fetal nos distintos grupos experimentais. São Paulo, 2022



Não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos experimentais nas demais variáveis estereológicas da faixa zonária da placenta (Tabela 9).

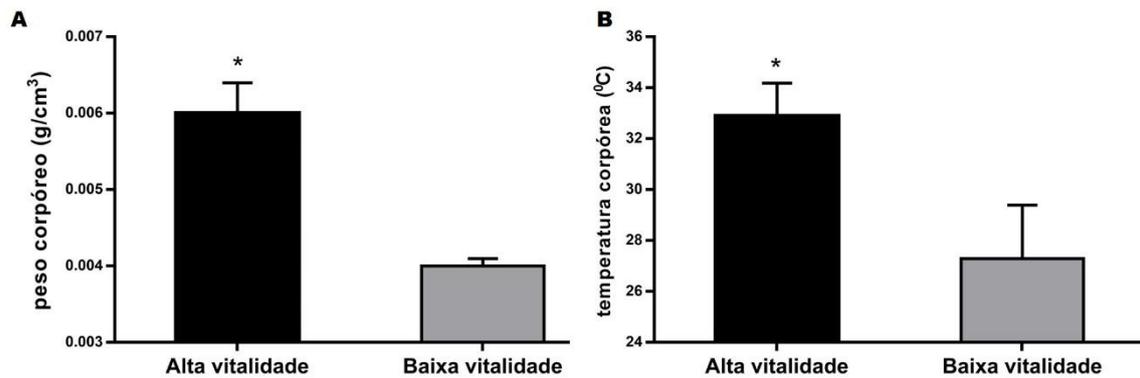
Tabela 9 - Valores médios normalizados \pm erro padrão das variáveis estereológicas da faixa zonária da placenta nos grupos alta vitalidade e baixa vitalidade. São Paulo, 2022

VARIÁVEL	GRUPO ALTA	GRUPO BAIXA	P
Volume total placentário	0,0007 \pm 0,0001	0,0004 \pm 0,00004	0,09
Densidade específica placentária	0,00004 \pm 9,91	0,00003 \pm 5,34	0,26
Volume total - hematomas marginais	0,02 \pm 0,004	0,01 \pm 0,001	0,08
Volume total - zona juncional	0,01 \pm 0,002	0,006 \pm 0,0009	0,07
Volume total - labirinto	0,03 \pm 0,007	0,02 \pm 0,002	0,17
Contribuição volumétrica - trofoblasto	0,57 \pm 0,12	0,44 \pm 0,04	0,47
Contribuição volumétrica - vasos placentários	0,56 \pm 0,13	0,63 \pm 0,06	0,57
Contribuição volumétrica - camada acelular	0,48 \pm 0,06	0,65 \pm 0,05	0,10
Contribuição volumétrica - calcificações	0,18 \pm 0,07	0,07 \pm 0,02	0,08
Contribuição volumétrica - área de inflamação	0,11 \pm 0,09	0,02 \pm 0,006	0,93
Contribuição volumétrica - hematomas	0,33 \pm 0,10	0,17 \pm 0	0
Contribuição volumétrica - necrose	0,03 \pm 0,01	0,01 \pm 0,007	0,52
Contribuição volumétrica - hematóidina	0,02 \pm 0,006	0,01 \pm 0,004	0,10
Contribuição volumétrica - hemossiderina	0,002 \pm 0	0,03 \pm 0,008	0
Espessura da barreira interhemal	0,01 \pm 0,003	0,02 \pm 0,006	0,39
Calibre médio dos vasos maternos e fetais	0,04 \pm 0,01	0,04 \pm 0,007	0,50

6.4. AVALIAÇÃO NEONATAL

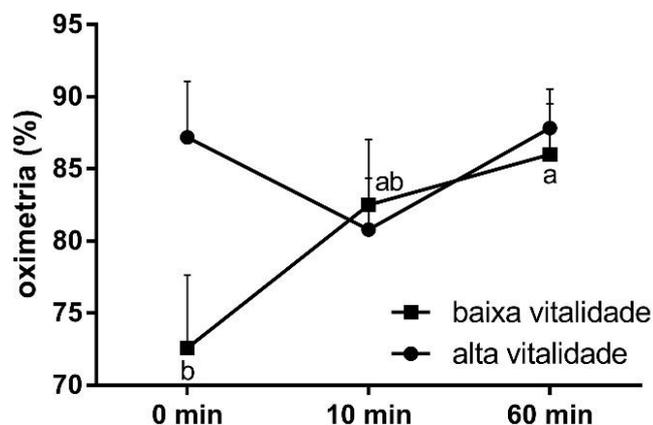
Foi observado menor peso ($P=0,003$) e temperatura corpórea ($P=0,02$) nos neonatos pertencentes ao grupo baixa vitalidade quando comparados ao grupo alta vitalidade, independente do momento de avaliação (Figura 15).

Figura 15 – Média e erro padrão do peso corpóreo (A) e temperatura corpórea (B) dos neonatos dos distintos grupos experimentais. São Paulo, 2022



Nos neonatos com baixa vitalidade, a saturação periférica de oxigênio aumentou progressivamente ao longo do período experimental, enquanto no grupo alta vitalidade, não houve diferença entre os distintos momentos de avaliação (Figura 16).

Figura 16 - Valores médios \pm erro padrão da saturação periférica de oxigênio nos grupos alta vitalidade e baixa vitalidade neonatal ao longo do período experimental. a-b diferença entre momentos de avaliação no mesmo grupo ($P<0,05$). São Paulo, 2022



6.5. ANÁLISES DE CORRELAÇÃO

6.5.1. Grupo alta vitalidade

O escore de mucosas dos neonatos apresentou correlação positiva com a intensidade de áreas de necrose na zona juncional ($r=0,65$; $p=0,04$) e áreas de calcificações na zona lamelar ($r=0,62$; $p=0,05$). A saturação periférica de oxigênio dos neonatos correlacionou negativamente com a intensidade de áreas com necrose na zona juncional ($r=-0,84$; $p=0,008$), que por sua vez, apresentou tendência de correlação positiva com a quantidade de células trofoblásticas gigantes nas zonas glandular ($r=0,63$; $p=0,06$) e juncional ($r=0,6$; $p=0,06$).

O peso dos filhotes correlacionou-se positivamente com diversas variáveis placentárias, entre elas: os volumes totais da placenta ($r=0,89$; $p=0,001$), dos hematomas marginais ($r=0,90$; $p=0,0009$), da zona juncional ($r=0,81$; $p=0,007$) e da zona lamelar ($r=0,79$; $p=0,01$); as contribuições volumétricas do trofoblasto ($r=0,88$; $p=0,01$) e das áreas de inflamação ($r=0,83$; $p=0,04$); área de superfície absoluta de contato materno-fetal ($r=0,91$; $p=0,0005$); espessura da barreira interhemal ($r=0,93$; $p=0,0002$) e calibre médio dos vasos placentários ($r=0,86$; $p=0,002$). Na zona lamelar, o peso dos neonatos correlacionou positivamente com a intensidade das áreas de calcificações ($r=0,86$; $p=0,002$), células inflamatórias ($r=0,81$; $p=0,007$) e tendência com a quantidade de trombos ($r=0,63$; $p=0,06$), mas houve correlação negativa com a intensidade de picnose das células sinciotrofoblásticas ($r=-0,91$; $p=0,0006$).

A intensidade de áreas com trombos nos hematomas marginais correlacionou-se positivamente com a área de calcificação na zona lamelar ($r=0,64$; $p=0,04$), espessura da barreira interhemal ($r=0,87$; $p=0,001$), calibre médio dos vasos placentários ($r=0,73$; $p=0,01$), área de calcificação ($r=0,61$; $p=0,05$) e quantidade de células inflamatórias ($r=0,61$; $p=0,05$) na zona juncional.

A intensidade de áreas com necrose na zona lamelar correlacionou-se negativamente com a quantidade de grânulos de hemossiderina presentes na zona lamelar ($r=-0,85$; $p=0,001$) e nos hematomas marginais ($r=-0,65$; $p=0,04$).

A intensidade de sinciotrofoblastos picnóticos na zona lamelar apresentou correlação negativa com diversas variáveis, entre elas: áreas de inflamação ($r=-0,85$; $p=0,001$) e calcificação ($r=-0,83$; $p=0,003$), área de superfície absoluta de contato materno-fetal ($r=-0,66$; $p=0,03$), volume total placentário ($r=-0,65$; $p=0,04$),

hematomas marginais ($r=-0,70$; $p=0,02$) e zona juncional ($r=-0,64$; $p=0,04$), espessura da barreira interhemal ($r=-0,78$; $p=0,007$) e calibre médio dos vasos placentários ($r=-0,72$; $p=0,01$).

O volume total dos hematomas marginais correlacionou-se positivamente com a área de superfície absoluta de contato materno-fetal ($r=0,90$; $p=0,0003$), a área de calcificação na zona lamelar ($r=0,73$; $p=0,01$), frequência cardíaca dos neonatos ($r=0,65$; $p=0,03$), espessura da barreira interhemal ($r=0,76$; $p=0,01$) e calibre médio dos vasos placentários ($r=0,72$; $p=0,01$). O volume total da zona juncional correlacionou-se positivamente com a contribuição volumétrica de áreas com necrose ($r=0,90$; $p=0,03$) e a área de superfície absoluta de contato materno-fetal ($r=0,88$; $p=0,0008$). Já o volume total do labirinto correlacionou-se positivamente com a área de superfície absoluta de contato materno-fetal ($r=0,94$; $p=0,0001$), espessura da barreira interhemal ($r=0,64$; $p=0,04$) e calibre médio dos vasos placentários ($r=0,69$; $p=0,02$).

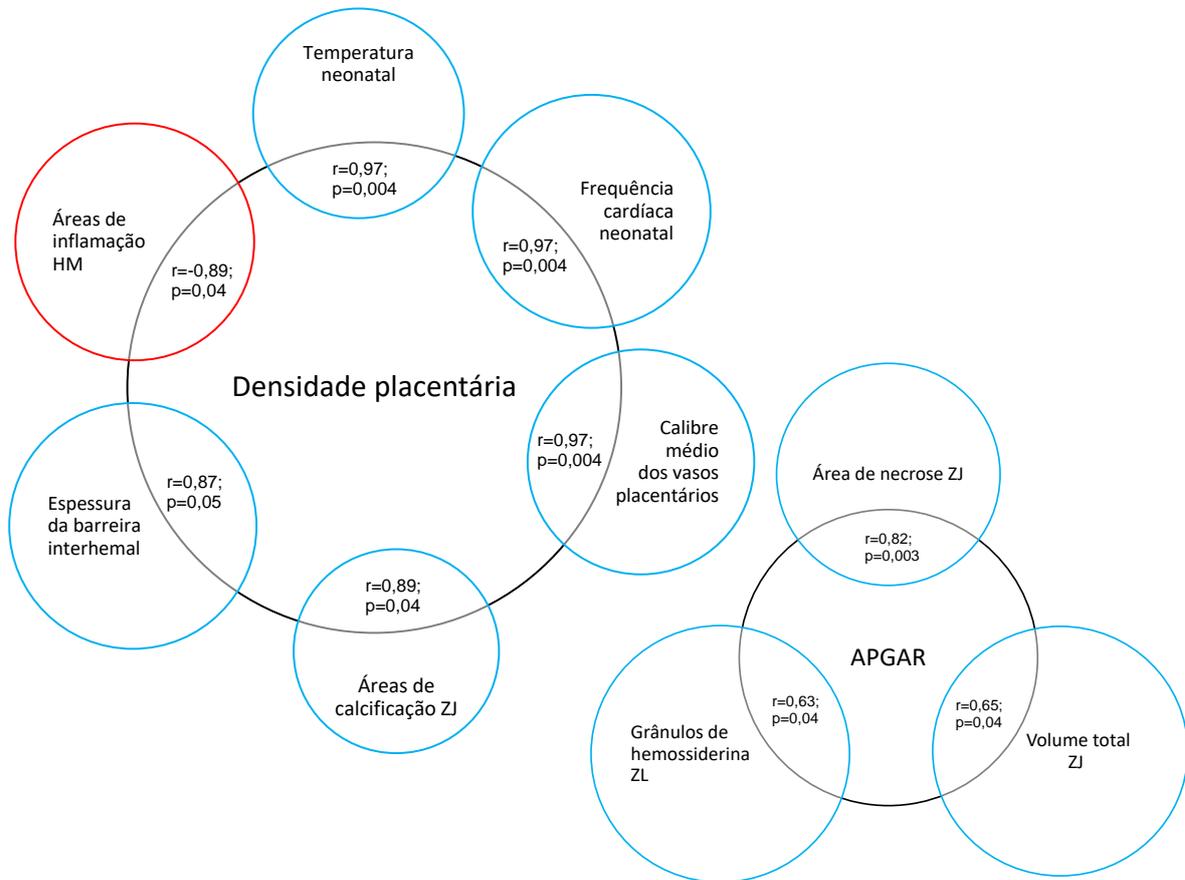
A contribuição volumétrica do trofoblasto correlacionou positivamente com a contribuição volumétrica da área de superfície absoluta de contato materno-fetal ($r=0,94$; $p=0,004$) e áreas com trombos na zona lamelar ($r=0,84$; $p=0,03$).

Houve correlação positiva entre as variáveis hemodinâmicas da artéria uterina e umbilical (Tabela 10).

Tabela 10 – Coeficiente de correlação (r) e nível de significância (p) das variáveis hemodinâmicas na artéria uterina e umbilical do grupo alta vitalidade. São Paulo, 2022

Artéria uterina	Artéria umbilical					
	Pico da velocidade sistólica	Velocidade diastólica final	Velocidade média de um ciclo cardíaco	Índice de pulsatilidade	Índice de resistividade	Relação sístole/diástole
Pico da velocidade sistólica	$r=0,82$; $p<0,0001$	$r=0,78$; $p<0,0002$	$r=0,80$; $p<0,0001$	$r=0,89$; $p<0,0001$	$r=0,90$; $p<0,0001$	$r=0,87$; $p<0,0001$
Velocidade diastólica final	$r=0,77$; $p<0,0003$	$r=0,77$; $p<0,0002$	$r=0,78$; $p<0,0002$	$r=0,81$; $p<0,0001$	$r=0,78$; $p<0,0002$	$r=0,79$; $p<0,0002$
Velocidade média de um ciclo cardíaco	$r=0,78$; $p<0,0002$	$r=0,76$; $p<0,0004$	$r=0,78$; $p<0,0002$	$r=0,83$; $p<0,0001$	$r=0,81$; $p<0,0001$	$r=0,80$; $p<0,0001$
Índice de pulsatilidade	$r=0,88$; $p<0,0001$	$r=0,86$; $p<0,0001$	$r=0,88$; $p<0,0001$	$r=0,92$; $p<0,0001$	$r=0,93$; $p<0,0001$	$r=0,92$; $p<0,0001$
Índice de resistividade	$r=0,94$; $p<0,0001$	$r=0,92$; $p<0,0001$	$r=0,94$; $p<0,0001$	$r=0,96$; $p<0,0001$	$r=0,96$; $p<0,0001$	$r=0,97$; $p<0,0001$
Relação sístole/diástole	$r=0,89$; $p<0,0001$	$r=0,87$; $p<0,0001$	$r=0,88$; $p<0,0001$	$r=0,92$; $p<0,0001$	$r=0,94$; $p<0,0001$	$r=0,92$; $p<0,0001$

Figura 17 - Diagrama de correlação entre as variáveis experimentais do grupo alta vitalidade neonatal. São Paulo, 2022



Fonte: MARCHETTI, PM (2022)

6.5.2. Grupo baixa vitalidade

A frequência cardíaca dos neonatos correlacionou-se negativamente com a intensidade de hematóidina nos hematomas marginais ($r=-0,69$; $p=0,01$). A intensidade de glândulas endometriais identificadas na zona glandular correlacionou-se negativamente com a frequência respiratória ($r=-0,79$; $p=0,01$) e escore de vitalidade neonatal ($r=-0,62$; $p=0,05$).

A intensidade de grânulos de hemossiderina nos hematomas marginais correlacionou-se negativamente com a contribuição volumétrica de necrose ($r=-0,88$; $p=0,02$), frequência cardíaca dos neonatos ($r=-0,67$; $p=0,02$), intensidade das áreas de calcificações ($r=-0,65$; $p=0,02$) e inflamações na zona lamelar ($r=-0,62$; $p=0,03$) e positivamente com a temperatura corpórea dos neonatos ($r=0,64$; $p=0,02$). Nas zonas glandular e juncional, a intensidade de grânulos de hemossiderina correlacionou-se positivamente com a intensidade das áreas de calcificações na zona lamelar ($r=0,83$;

$p=0,003$ e $r=0,60$; $p=0,03$, respectivamente), inflamações na zona glandular ($r=0,71$; $p=0,02$ e $r=0,71$; $p=0,02$, respectivamente) e a saturação periférica de oxigênio dos neonatos ($r=0,77$; $p=0,04$ e $r=0,75$; $p=0,02$, respectivamente). Na zona lamelar, a intensidade de grânulos de hemossiderina correlacionou-se positivamente com o escore de vitalidade neonatal ($r=0,60$; $p=0,03$) e negativamente com o volume total placentário ($r=-0,62$; $p=0,03$), volume total do labirinto ($r=-0,63$; $p=0,02$) e a contribuição volumétrica do trofoblasto ($r=-0,72$; $p=0,01$).

A quantidade de esquizócitos no labirinto apresentou correlação negativa com a frequência cardíaca ($r=-0,72$; $p=0,01$) e respiratória ($r=-0,71$; $p=0,02$) e escore de mucosas dos neonatos ($r=-0,63$; $p=0,02$). A intensidade de sinciciotrofoblastos picnóticos na zona lamelar correlacionou-se positivamente com a intensidade de trombos presentes na zona lamelar ($r=0,82$; $p=0,001$) e a intensidade de áreas com necrose na zona glandular ($r=0,73$; $p=0,01$) e, negativamente, com a intensidade de trombos presentes nos hematomas marginais ($r=-0,81$; $p=0,001$), a espessura da barreira interhemal ($r=-0,76$; $p=0,004$) e o calibre médio dos vasos placentários ($r=-0,67$; $p=0,01$).

O volume total placentário correlacionou-se positivamente com o calibre médio dos vasos placentários ($r=0,58$; $p=0,04$), negativamente com a intensidade das áreas de necrose nas zonas glandular ($r=-0,67$; $p=0,03$), juncional ($r=-0,79$; $p=0,002$) e lamelar ($r=-0,55$; $p=0,05$).

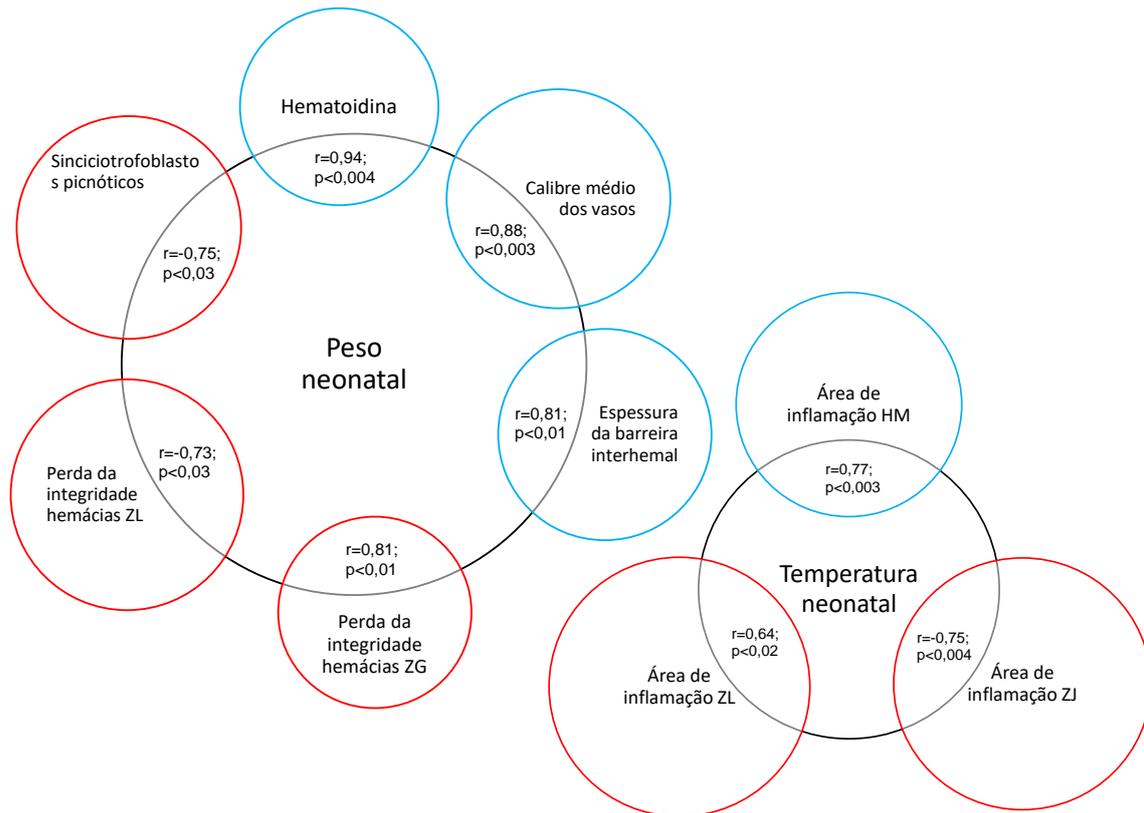
Houve correlação positiva entre as variáveis hemodinâmicas da artéria uterina e umbilical (Tabela 11).

Tabela 11 – Coeficiente de correlação (r) e nível de significância (p) das variáveis hemodinâmicas na artéria uterina e umbilical do grupo baixa vitalidade neonatal. São Paulo, 2022

Artéria uterina	Artéria umbilical					
	Pico da velocidade sistólica	Velocidade diastólica final	Velocidade média de um ciclo cardíaco	Índice de pulsatilidade	Índice de resistividade	Relação sístole/diástole
Pico da velocidade sistólica	$r=0,89$; $p<0,0001$	$r=0,89$; $p<0,0001$	$r=0,91$; $p<0,0001$	$r=0,92$; $p<0,0001$	$r=0,91$; $p<0,0001$	$r=0,84$; $p<0,0001$
Velocidade diastólica final	$r=0,89$; $p<0,0001$	$r=0,82$; $p<0,0001$	$r=0,92$; $p<0,0001$	$r=0,92$; $p<0,0001$	$r=0,94$; $p<0,0001$	$r=0,93$; $p<0,0001$
Velocidade média de um ciclo cardíaco	$r=0,90$; $p<0,0001$	$r=0,85$; $p<0,0001$	$r=0,93$; $p<0,0001$	$r=0,94$; $p<0,0001$	$r=0,95$; $p<0,0001$	$r=0,91$; $p<0,0001$
Índice de pulsatilidade	$r=0,69$; $p<0,0008$	$r=0,71$; $p<0,0004$	$r=0,71$; $p<0,0004$	$r=0,73$; $p<0,0003$	$r=0,74$; $p<0,0002$	$r=0,68$; $p<0,0001$

Índice de resistividade	$r=0,78;$ $p<0,0001$	$r=0,87;$ $p<0,0001$	$r=0,82;$ $p<0,0001$	$r=0,88;$ $p<0,0001$	$r=0,91;$ $p<0,0001$	$r=0,75;$ $p<0,0001$
Relação sístole/diástole	$r=0,65;$ $p<0,001$	$r=0,73;$ $p<0,0002$	$r=0,65;$ $p<0,001$	$r=0,73;$ $p<0,0002$	$r=0,75;$ $p<0,0001$	$r=0,60;$ $p<0,004$

Figura 18 - Diagrama de correlação entre as variáveis experimentais do grupo baixa vitalidade neonatal. São Paulo, 2022



Fonte: MARCHETTI, PM (2022)

7. DISCUSSÃO

A identificação de alterações útero-placentárias com impacto direto ou indireto na vitalidade neonatal canina é motivo de estudo contínuo na Medicina Veterinária, embora já se tenha amplo conhecimento na Medicina Humana. Desta maneira, o presente experimento contribui para o entendimento da relação entre a morfofuncionalidade placentária e a hemodinâmica materno-fetal sobre o desempenho dos neonatos caninos no período de transição imediato.

Embora diversos estudos tenham sido realizados com o intuito de definir valores hemodinâmicos normais das artérias uterinas e umbilicais no periparto de cadelas (NAUTRUP, 1996 e 1998; DI SALVO *et al.*, 2006; BLANCO *et al.*, 2008 e 2011; SIMÕES *et al.*, 2011; GIANNICO *et al.*, 2015; RUFINO *et al.*, 2022), o presente trabalho traçou uma relação entre a hemodinâmica gestacional e atributos clínicos do neonato canino. Não observamos redução do índice de resistividade da artéria umbilical à eminência do parto, diferentemente do relatado por GIANNICO *et al.* (2015), embora os referidos autores não tenham considerado a influência do peso corpóreo das fêmeas. O fluxo sanguíneo da artéria umbilical pode sofrer influência, além do momento da gestação, da posição e número de fetos no corno uterino, idade materna e raça. Desta maneira, acreditamos que o posicionamento uterino dos fetos avaliados no presente experimento (extremidade cranial de cada corno uterino), bem como a normalização do fluxo sanguíneo pelo perímetro corpóreo materno, sejam os principais motivos pelos quais não foi verificada redução esperada da resistência da artéria umbilical ao término da gestação. Cabe ressaltar que o índice de resistividade dos vasos sanguíneos também é regulado pela pressão sanguínea, a qual eleva-se durante o terço final da gestação em cadelas (ROSA, 2018). Ademais, o perfil hormonal em tal período gestacional favorece a maior resistividade vascular, representado por redução de agentes vasodilatadores (níveis séricos de progesterona e dopamina) e ação de substâncias vasoconstritoras (prolactina, arginina-vasopressina e angiotensina II) (CONCANNON *et al.*, 1989; OKKENS *et al.*, 1997; FREEMAN *et al.*, 2000, OLIVEIRA *et al.*, 2006; BLANCO *et al.*, 2011; JURADO *et al.*, 2018).

Avaliando-se os resultados hemodinâmicos da artéria uterina e umbilical, nota-se que a vascularização da unidade feto-placentária não exerce influência sobre a vitalidade do neonato canino ao nascimento, diferentemente do observado para a

espécie humana (STUART *et al.*, 1980; CAMPBELL *et al.*, 1986; GUDMUNDSSON *et al.*, 1990; JURKOVIC *et al.*, 1991; DIAS, 2005). Desta forma, infere-se a existência de um possível mecanismo de compensação vascular na espécie canina, permitindo a manutenção de adequada vascularização fetal, a despeito de mudanças hemodinâmicas fisiológicas do organismo materno. Por outro lado, a diminuição significativa da frequência cardíaca fetal à proximidade do parto (pródromos) demonstra que o aumento da tonicidade uterina, juntamente com episódios intermitentes de contração levam à resposta vascular fetal, denotando bradicardia quando o fluxo sanguíneo uterino sofre alterações.

Com relação à análise macroscópica da morfologia placentária, as regiões do labirinto e hematomas marginais puderam ser facilmente identificadas, embora com coloração distinta daquela descrita na literatura (vermelho claro, vermelho escuro, marrom, verde e preta) (AMBROSIO, 2004; COSTA, 2015). Na face materna da região do labirinto, foram observadas fissuras à semelhança da placenta das gatas, portanto, podendo ser classificada também como placenta zonária anular incompleta (AMBROSIO *et al.*, 2004). À análise morfológica da placenta, não foi possível evidenciar diferenças no peso, largura e comprimento da faixa zonária entre os grupos de alta e baixa vitalidade neonatal. De fato, estudos anteriores atestam que o peso placentário não interfere com sua capacidade funcional (ARNOLD *et al.*, 2001; VONNAHME *et al.*, 2001; REYNOLDS *et al.*, 2005), não sendo, portanto, características a serem consideradas como influenciadoras do desempenho clínico neonatal em cães. Por outro lado, na região dos hematomas marginais, a placenta de filhotes com alta vitalidade apresentou maior intensidade de aglomerado de eritrócitos e menor intensidade de grânulos de hemossiderina. Tal resultado sugere que eritrócitos maternos penetram nas células trofoblásticas, atuando no mecanismo de transporte materno-fetal, permitindo melhor resposta adaptativa neonatal ao ambiente extra-uterino. Porém, de acordo com Ambrósio (2004), os hematomas marginais da placenta canina apresentam função fagocitária e eritrofagocitária (endocitose férrica) até o terço médio gestacional, e transferência de nutrientes para o feto a partir do terço final da gestação. De fato, a intensidade de grânulos de hemossiderina nos hematomas marginais apresentou correlação negativa com a frequência cardíaca dos neonatos de baixa vitalidade, sugerindo que a diminuição da função do hematoma marginal no armazenamento de íons de ferro (função da hemossiderina) tenha sido substituída pelo transporte nutricional e, portanto, contribuído para melhor adaptação

cardiovascular dos filhotes (GIKOVATE, 1945; GROTTTO, 2008; HENRY, 2008; CARVALHO *et al.*, 2015). De outra forma, a menor deposição dos grânulos de hemossiderina nas áreas de hematoma marginal nos filhotes com alta vitalidade pode ser decorrente do maior aporte de ferro para os fetos ao final da gestação e, portanto, menor quantidade de armazenamento na forma de pigmento de hemossiderina no tecido placentário.

As placentas dos neonatos com alta vitalidade ao nascimento apresentaram maior concentração de hematoidina na zona glandular e menor concentração de malha de fibrina na zona juncional. A hematoidina é um pigmento derivado da bilirrubina, mas não possui capacidade de armazenamento de ferro, e é participante de coágulos e focos hemorrágicos crônicos. A presença de hematoidina na zona glandular da placenta é um resultado interessante, uma vez que é um pigmento característico dos hematomas marginais. Furukawa *et al.* (2014) atestaram que a zona glandular da placenta canina é composta por restos glandulares e endometriais e apresenta aspecto necrótico fisiológico ao desprendimento da placenta durante o parto. Portanto, acreditamos que tal necrose seja do tipo coagulativa, pois a isquemia decorrente do descolamento placentário justifica a presença de hematoidina na região glandular da placenta. Desta maneira, também se reflete em adequada funcionalidade na prevenção de processos hemorrágicos e perda sanguínea durante a invasão trofoblástica. De fato, a placenta de filhotes com alta vitalidade apresentou maior área de superfície absoluta de contato materno-fetal, denotando que a extensão de áreas de troca determina melhor desempenho clínico dos neonatos. Por outro lado, conforme a invasão das células trofoblásticas ocorre, predispõe-se aos processos hemorrágicos, os quais devem ser contidos por mecanismos coagulatórios. Tal resultado pode ser corroborado pela positiva correlação entre o peso dos neonatos e a contribuição volumétrica de hematoidina e a quantidade de trombos na zona lamelar. Ainda, a contribuição volumétrica do trofoblasto correlacionou-se positivamente com áreas trombóticas na zona lamelar. Portanto, entende-se que a maior proteção coagulatória da placenta contribui para o nascimento de filhotes com maior peso corpóreo.

De forma contrária, na zona juncional, houve menor concentração de malha de fibrina no grupo de filhotes com alta vitalidade ao nascimento, sugerindo reduzida formação de coágulos sanguíneos. É importante salientar que a zona juncional da placenta é a região de íntimo contato materno-fetal (ARALLA *et al.*, 2013; COSTA,

2015). Portanto, a menor malha de fibrina em tal área placentária permite que o fluxo sanguíneo direto entre a porção materna e fetal não seja interrompido pela formação de trombos ou coágulos, corroborando com a negativa correlação entre a saturação periférica de oxigênio neonatal e a quantidade de áreas necróticas na zona juncional. Em estudo realizado com camundongos, foi observado maior quantidade de pontos hemorrágicos na zona juncional das placentas de fêmeas sadias (SOUSA, 2018), podendo talvez, de acordo com os nossos achados, estar relacionado com maior vitalidade neonatal.

Embora nenhum estudo tenha descrito a presença de esquizócitos na placenta canina, na medicina humana, a presença no sangue materno periférico de gestantes com pré-eclâmpsia já tenha sido detectada (NASCIMENTO E SILVA *et al.*, 2008). Sabe-se que os esquizócitos são eritrócitos fragmentados resultantes da hemólise mecânica intravascular ou presença de agentes oxidantes. Em mulheres, está relacionado com alterações cardiovasculares, incluindo a coagulação intravascular disseminada e complicações gestacionais como a púrpura trombocitopênica trombótica, síndrome hemolítico-urêmica pós-parto e a síndrome HELLP - hemólise, níveis elevados de enzimas hepáticas e baixa contagem de plaquetas (FOERSTER, 1998). No presente experimento, embora não tenhamos observado diferença significativa na quantidade de esquizócitos placentários entre os grupos experimentais, houve correlação negativa com a frequência cardíaca, respiratória e o escore de mucosas dos neonatos. Tal resultado sugere que a presença de esquizócitos na placenta pode ser um marcador negativo do desempenho clínico neonatal na fase de transição.

Os filhotes do grupo de alta vitalidade apresentaram maior peso e temperatura corpórea, em comparação aos neonatos com baixa vitalidade, independente do momento de avaliação. Na Medicina Humana, sabe-se que o baixo peso ao nascimento é fator de risco para desfechos perinatais adversos (CARRERA, 2000; BASCHAT *et al.*, 2007; FRANCIOTTI *et al.*, 2010). Desta forma, sugere-se relação de causa e efeito entre o peso do neonato ao nascimento e sua capacidade de termorregulação, ambos influenciando o desempenho clínico geral (vitalidade) na primeira hora de vida. Ao se analisar os resultados de forma geral, depreende-se que as características placentárias podem influenciar o desenvolvimento fetal e, portanto, determinar o peso dos filhotes no período adaptativo inicial. Por sua vez, filhotes de

baixo peso ao nascimento possuem desempenho clínico aquém do esperado, podendo comprometer o desenvolvimento dos filhotes nas futuras etapas de vida.

8. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- A hemodinâmica materno-fetal (artéria uterina) e feto-placentária (artéria umbilical) ao longo do terço final da gestação não influencia diretamente o desempenho clínico de neonatos caninos ao nascimento, a despeito da redução na frequência cardíaca fetal próxima ao nascimento. Infere-se que mecanismos de adaptação hemodinâmicos materno-fetais estão ativos ao ponto de não comprometerem a vitalidade do recém-nato.
- Distintas características morfológicas e morfométricas da placenta podem alterar a resposta clínica e vitalidade dos neonatos caninos na fase adaptativa inicial.
- A morfo-funcionalidade vascular placentária impõe impacto sobre o desempenho e êxito neonatal durante o período adaptativo inicial.

9. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. H.; STERMAN, F. A.; MIGLINO, M. A. **Mensuração ultrasonográfica das dimensões da placenta em gestações normais em cadelas da raça Boxer e sua relação com a idade gestacional.** Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. v. 40, p. 136-40, 2003.
- ALMEIDA, V.T.; USCATEGUI, R. A. R.; SILVA, P. D. A.; AVANTE, M. L.; SIMÕES, A. P. R.; VICENTE, W. R. R. **Hemodynamic gestational adaptation in bitches.** Ciência Rural, v. 47, n. 7, 2017.
- ALVINO, G.; COZZI, V.; RADAELLI, T.; ORTEGA, H.; HERRERA, E.; CETIN, I. **Maternal and fetal fatty acid profile in normal and intrauterine growth restriction pregnancies with and without preeclampsia.** Pediatric Research, v. 64, p. 615-620, 2008.
- AMBRÓSIO, C. E. **A barreira placentária em cães (Canis familiares. Linnaeus, 1758):** fluxo sanguíneo materno fetal. 2004. 95 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- AMBROSIO, C. E.; MIGLINO, M.A.; LIMA, A. R.; MARTINS, D. S.; ASSIS-NETO, A. C.; BONATELLI, M.; VERECHA, F. T.; CARVALHO, A. F. **Fissura placentária de gatas SRD, Felis catus – Linnaeus, 1758. Aspectos macro e microscópicos Placental fissure in mongrel cats, Felis catus - Linnaeus, 1758. Gross and microscopical aspects.** Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 41, p. 81-85, 2004.
- ARALLA, M.; GROPPETTI, D.; CALDARINI, L.; CREMONESI, F.; ARRIGHI, S. **Morphological evaluation of the placenta and fetal membranes during canine pregnancy from early implantation to term.** Research in Veterinary Science, v. 95, p. 15-22, 2013.
- ARNOLD, D. R.; KIRSCH, J. D.; KRAFT, K. C.; REDMER, D. A.; REYNOLDS, L. P. **Relationship among placental vascularity, fetal growth, and offspring number in sheep.** Journal of Animal Science, North Dakota, v. 79, p. 90, 2001. Supplement 2, Abstract 258.
- BADDELEY, A. J.; GUNDERSEN, H. J.; CRUZ-ORIVE, L. M. **Estimation of surface area from vertical sections.** Journal of Microscopy, v. 142, p. 259-276, 1986.

BAILEY, T. L.; HUDSON, R. S.; POWE, T. A.; RIDDELL, M. G.; WOLFE, D. F.; CARSON, R. L. **Caliper and ultrasonographic measurements of bovine testicles and a mathematical formula for determining testicular volume and weight in vivo.** Theriogenology, v. 49, p. 581-594, 1998.

BASCHAT, A. A. **Fetal growth restriction - from observation to intervention.** Journal of Perinatal Medicine, v. 38, p. 239-246, 2010.

BASCHAT, A. A.; COSMI, E.; BILARDO, C. M.; WOLF, H.; BERG, C.; RIGANO, S.; GERMER, U.; MOYANO, D.; TURAN, S.; HARTUNG, J.; AMARNATH, B.; MULLER, T.; BOWER, S.; NICOLAIDES, K.H.; THILAGANATHAN, B.; GEMBRUCH, U.; FERRAZZI, E.; HECHER, K.; GALAN, H. L.; HARMAN, C. R. **Predictors of neonatal outcome in early-onset placental dysfunction.** Obstetrics & Gynecology, v. 109, p. 253-261, 2007.

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

BLANCO, P. G.; BATISTA, P. R.; GÓMEZ, F. E.; ARIAS, D. O.; GOBELLO, C. **Echocardiographic and Doppler assessment of maternal cardiovascular function in normal and abnormal canine pregnancies.** Theriogenology, v. 78, p. 1235-1242, 2012.

BLANCO, P. G.; RODRIGUES, R.; RUBES, A.; ARIAS, D. O.; TORTORA, M.; DÍAZ, J. D.; GOBELLO, C. **Doppler ultrasonographic assessment of maternal and fetal blood flow in abnormal canine pregnancy.** Animal Reproduction Science, v. 126, p. 130-135, 2011.

BORGES, V. T. M.; MATSUBARA, B. B.; PERAÇOLI, J. C.; CALDERON, I. M. P.; ABBADE, J. F.; RUDGE, M. V. C. **Effect of Maternal Hemodynamic Alterations on the Product of Conception.** Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, v. 23, n. 3, p.147-151, 2001.

BROLIO, M. P.; AMBRÓSIO, C. E.; FRANCIOLLI, A. R.; MORINI, A. C.; GUERRA, R. R.; MIGLINO, M. A. **A barreira placentária e sua função de transferência nutricional.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 34, n. 4, p. 222-232, 2010.

CAMPBELL, S.; PEARCE, J. M.; HACKETT, G.; COHEN-OVERBEEK, T.; HERNANDEZ, C. **Qualitative assessment of uteroplacental blood flow: early screening test for high-risk pregnancies.** Obstetrics & Gynecology, v. 68, p. 649-53, 1986.

CARRERA, J. M. *et al.* **Etiology and pathogenesis of intrauterine growth retardation.** In: Kurjak S, Editor. *Textbook of perinatal medicine.* London: Parthenon, 2000 p. 1171-1191

CARTER, A. M.; BLANKENSHIP, T. N.; KÜNZLE, H.; ENDERS, A. C. **Development of the haemophagous region and labyrinth of the placenta of the tenrec, *Echinops telfairi*.** *Placenta*, v. 26, p. 251-261, 2005.

CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C.; CERRI, G. G. **Princípios físicos do Doppler em ultrassonografia.** *Ciência Rural*, v. 38, p. 872-879, 2008.

CARVALHO, M. C.; BARACAT, E. C. E.; SGARBIERI, V. C. **Anemia ferropriva e anemia de doença crônica: distúrbios do metabolismo de ferro.** *Segurança Alimentar e Nutricional*, Campinas, SP, v. 13, n. 2, p. 54–63, 2015.

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

COAN, P. M.; FERGUSON-SMITH, A. C.; BURTON, G. J. **Developmental dynamics of the definite mouse placenta assessed by stereology.** *Biology of Reproduction*, v. 70, p.1806-1813, 2004.

DELLMANN, H. D.; BROWN, E. M. **Histologia veterinária.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 397, 1982.

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.

DIAS, R. S. P. **Rastreamento da insuficiência placentária através do doppler das artérias uterinas via transvaginal entre 22 e 24 semanas de gestação.** Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2005.

ENDERS, A. C.; CARTER, A. M. **The evolving placenta: Convergent evolution of variations in the endotheliochorial relationship.** *Placenta*, v. 33, p. 319-326, 2012.

ENGLAND, G.; YEAGER, A.; CONCANNON, P. W. **Ultrasound imaging of the reproductive tract of the bitch.** In: Concannon PW, England G, Verstegen III J, Linde-Forsberg C. Recent advances in small animal reproduction. Ithaca: International Veterinary Information Service, USA, 2003.

FELICIANO, M. A. R.; MUZZI, L. A. L.; LEITE, C. A. L. *et al.* **Ultra-sonografia bidimensional convencional, de alta resolução e tridimensional no acompanhamento da gestação em cadela.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.59, n.5, p.1333-1337, 2007.

FOERSTER J. **Síndromes da fragmentação de hemácias.** In: Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN, editores. Wintrobe hematologia clínica. São Paulo: Manole; 1998. p. 1329-51.

FRANCIOTTI, D. L.; MAYER, G. N.; CANCELIER, A. C. L. **Fatores de risco para baixo peso ao nascer: um estudo de caso-controle.** Arquivos Catarinenses de Medicina, v. 39, n. 3, p. 63-69, 2010.

FRANCISCO, R.P.V.; MIYADAHIRA, S.; ZUGAIB, M. **Predicting pH at birth in absent or reversed end-diastolic velocity in the umbilical arteries.** Obstetrics & Gynecology, v. 107, p. 1042-1048, 2006.

FREEMAN, M.; KANYICKSKA, B.; LERANT, A.; NAGY, G. **Prolactin: Structure, Function, and Regulation of Secretion.** Physiological Reviews, v. 80, p.1523-631, 2000.

FROES T. R.; GIL, E. M. U. **Avanços da ultrassonografia gestacional em cadelas.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 23, 2019, Gramado. Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal. Gramado: CBRA, 2019. p. 248-260.

FURUKAWA, S.; KURODA, Y.; SUGIYAMA, A. A. **Comparison of the Histological Structure of the Placenta in Experimental Animals.** Journal of Toxicologic Pathology, v. 27, p. 11-18, 2014.

GARAVAZZO, S. E. B. **Resultados perinatais de fetos gemelares com discordância de peso e dopplervelocimetria da artéria umbilical com fluxo diastólico presente.** Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2017.

GARDÉS, T. P. **Avaliação de parâmetros respiratórios e hemodinâmicos durante a gestação em cadelas de conformação braquiocefálica.** Tese de Mestrado. FMVZ, Universidade de São Paulo, 2018.

GIANNICO, A. T., GIL, E. M. U., GARCIA, D. A. A.; FROES, T. R. **The use of Doppler evaluation of the canine umbilical artery in prediction of delivery time and fetal distress.** Animal Reproduction Science, v. 8, p. 105-112, 2015.

GIANNICO, A. T.; GARCIA, D. A. A.; GIL, E. M. U.; SOUSA, M. G.; FROES, T. R. **Assessment of umbilical artery flow and fetal heart rate to predict delivery time in bitches.** Theriogenology, v. 86, n. 7, p. 1654-1661, 2016.

GIKOVATE, F. **Fisiopatologia da icterícia.** Revista de medicina. edição agosto. p. 253. 1945.

GIL, E. M. U.; GARCIA, D. A. A.; GIANNICO, A. T.; FROES T. R. **Use of B-mode ultrasonography for fetal sex determination in dogs.** Theriogenology, v. 84, n. 6, p. 875-879, 2015.

GIL, E. M. U.; GARCIA, D. A. A.; GIANNICO, A. T.; FROES, T. R. **Canine fetal heart rate: Do accelerations or decelerations predict the parturition day in bitches?** Theriogenology, v. 82, p. 933-941, 2014.

GROTTO, H. Z. W. **Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 30, n. 5, p. 390-397, 2008.

GUDMUNDSSON, S.; FAIRLIE, F.; LINGMAN, G.; MARSAL, K. **Recording of blood flow velocity waveforms in the utero-placental and umbilical circulation - reproducibility study and comparison of pulsed and continuous wave Doppler ultrasound.** Journal of Clinical Ultrasound, v. 18, p. 97-101, 1990.

GUIMARÃES, C. F.; MEIRELLES, M. G.; FERNANDES, C. B. **Eficiência placentária na espécie equina: quais fatores podem estar relacionados?** Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, São Paulo, v. 52, p. 98-105, 2015.

GUIMARÃES, N. M.; BERTATI, L. M.; BESSA, M. F.; ANDREOLI, J. A.; CORTES, J. F. G.; CARVALHO, M. M. L. **Relato de caso: Insuficiência placentária em gestante complicada pela COVID-19.** Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento. Ed. 02, v. 06, p. 180-187, 2022.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. São Paulo: Manole, 2004. v. 7, p. 513.

HENRY, J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. São Paulo: Manole; 2008. xxiv, p. 1552.

HOWARD, C. V.; REED, M. G. **Unbiased Stereology: Three-Dimensional Measurement in Microscopy**. Abingdon, Oxon: Garland Science/Bios Scientific, 2005, p. 103–117.

HYTTEL, P.; SINOWATZ, F.; VEJLSTED, M. **Embriologia veterinária**. 2. ed Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. p. 455.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY HISTOLOGICAL NOMENCLATURA. **Nomina histological**. 6. ed. Revista Zurich, 2017.

JARRETTA, G. B. **Ultrassonografia do aparelho reprodutivo em pequenos animais**. In: Carvalho, C.F. Ultrassonografia em pequenos animais. São Paulo: Roca; 2004. p.181-211.

JURADO, S. R.; SILVA, M. E. P.; LOPES, A. M. S. **A redução da síntese de óxido nítrico durante gestação prejudica a microvasculatura cardíaca neonatal**. In: Anais do Congresso Brasileiro de Enfermagem Obstétrica e Neonatal. Campo Grande, CCARGC, 2018.

JURKOVIC, D.; JAUNIAUX, E.; KURJAK, A. **Transvaginal color Doppler assessment of the uteroplacental circulation in early pregnancy**. *Obstetrics & Gynecology*, v. 77, p. 365-369, 1991.

KARSDORP, V. H. M.; VANVUGT, J. M. G.; VANGEIJN, H. P.; KOSTENSE, P. J.; ARDUINI, D.; MONTENEGRO, N. *et al.* **Clinical significance of absent or reversed end-diastolic velocity wave-forms in umbilical artery**. *Lancet*, v. 344, p. 1664-1668, 1994.

LILLIE, R. D.; FULMER, H. M. **Histopathologic technic and practical histochemistry**. 4. ed. New York: McGraw-Hill, 1976.

LOURENÇO, M. L. G.; MACHADO, L. H. A. **Características do período de transição fetal-neonatal e particularidades fisiológicas do neonato canino**.

Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 37, n. 4, p. 303-308, 2013.

LUZ, M. R. **Parto en perras y gatas. Temas de reproducción de caninos y felinos por autores latino-americanos.** La Plata: Gráfica Latina, p. 237-248, 2004.

MAEDA, M. F. Y.; NOMURA, R. M. Y.; NIIGAKI, J. I.; MIYADAHIRA, S.; ZUGAIB, M. **Relação cerebroplacentária e acidemia ao nascimento em gestações com insuficiência placentária detectada antes da 34^a semana de gestação.** Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, v. 32, 2010.

MARQUES, M. R.; GRANDI, C.; NASCENTE, L. M. P.; CAVALLI, R. C.; CARDOSO, V. C. **Placental morphometry in hypertensive disorders of pregnancy and its relationship with birth weight in a Latin American population.** Pregnancy Hypertension. International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy. Elsevier B. V., v. 13, p. 235–241, 2018

MATTOON, J. S.; NYLAND, T.G. **Ovaries and uterus.** *In:* Mattoon, J.S., Nyland, T.G., Small Animal Diagnostic Ultrasound. 3rd ed. Elsevier, Canada, p. 634-654, 2015.

MAYHEW, T. M.; OHADIKE, C, BAKER, P. N.; CROCKER, I. P.; MITCHELL, C; ONG, S. S. **Stereological investigation of placental morphology in pregnancies complicated by pre-eclampsia with and without intrauterine growth restriction.** Placenta, v. 24, p. 219–226, 2003.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Hidatidose humana no Brasil: manual de procedimentos técnicos para o diagnóstico parasitológico e imunológico.** Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde - Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Helminhos Parasitos de Vertebrados. Serviço de Referência Nacional em Hidatidose – Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

MIYADAHIRA, S.; NOMURA, R. M. Y.; FRANCISCO, R. P. V.; ZUGAIB, M. **Quais as novidades no uso da dopplervelocimetria na insuficiência placentária?** Revista da Associação Médica Brasileira, v. 55, 2009.

NASCIMENTO E SILVA, R. F.; RUIZ E RESENDE, L. S.; CARDOSO, B. R.; ABBADE, J. F.; PERAÇOLI, J. C. **Significado da presença de esquizócitos no sangue periférico de gestantes com pré-eclâmpsia.** Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, v. 30, p. 406-412, 2008.

NAUTRUP, C. P. **Doppler ultrasonography of canine maternal and fetal arteries during normal gestation.** Journal Reproduction Fertility, v. 112, p. 301-314, 1998.

NAUTRUP, C. P. **Duplexsonographie.** *In:* Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze. Han-nover: SchlIntersche, p. 314-322, 1996.

NETO, A. R. M.; CÓRDOBA, J. C. M.; PERAÇOLI, J. C. **Etiologia da restrição de crescimento intrauterino (RCIU).** Comunicação em Ciências da Saúde, v. 1, p. 21-30, 2011.

NYLAND, T. G.; MATTOON, J. S. **Ovaries and uterus.** *In:* Small animal diagnostic ultrasound. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Company, 2002. p.231-249.

NYLAND, T. G.; MATTOON, J. S. **Ovarios y útero.** *In:* Nyland TG, Mattoon JS. Diagnóstico ecográfico en pequeños animales. 2a ed. Barcelona: Multimédica, 2004. p. 240-256.

OKKENS, A. C.; KOOISTRA, H. S.; DIELEMAN, S. J.; BEVERS, M. M. **Dopamine agonistic effects as opposed to prolactin concentrations in plasma as the influencing factor on the duration of anestrus in bitches.** Journal of reproduction and fertility, v. 51, p. 55-58, 1997.

OLIVEIRA, E.; MARQUES, J. R. **Endocrinologia reprodutiva e controle da fertilidade da cadela.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 30, p. 11-18, 2006.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **World health statistics 2021: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals.** Geneva: World Health Organization; 2021.

OYEJIDE, L.; MENDES, O. R.; MIKAEIAN, I. **A Comprehensive Guide to Toxicology in Preclinical Drug Development.** *In:* Chapter 10 – Molecular Pathology: Applications in Nonclinical Drug Development. Academic Press, p. 237-276, 2013.

PARDI, G.; CETIN, I.; MARCONI, A. M.; LANFRANCHI, A.; BOZZETTI, P.; FERRAZZI, E.; BUSCAGLIA, M.; BATTAGLIA, F. C. **Diagnostic value of blood sampling in fetuses with growth retardation.** The New England Journal of Medicine, v. 328, p. 692-696, 1993.

PASCOE, P. J.; MOON, P. F. **Periparturient and neonatal anesthesia.** *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, v. 31, p. 315-340, 2001.

PASTORE, D. E. A.; JALES, R. M. **Interpretação do Doppler obstétrico na avaliação da vitalidade fetal.** Dr Pixel. Campinas, 2016. Disponível em: www.fcm.unicamp.br/drpixel/conteudo/interpretacao-do-doppler-obstetrico-na-avaliacao-da-vitalidade-fetal. Acesso em: 24 Abr. 2019.

PEREIRA, K. H. N. P. **Abordagem da asfixia neonatal e infecção bacteriana em neonatos caninos: uso da troponina i e avaliação da sepse.** 2021. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, universidade estadual paulista "Júlio De Mesquita Filho", Botucatu, 2021.

PESQUISA NACIONAL DE SAÚDE 2013. **Acesso e utilização dos serviços de saúde, acidentes e violências. Brasil, grandes regiões e unidades da federação.** Rio de Janeiro: IBGE, 2015.

PRATS, A. **Período neonatal.** *In:* Prats, A. Neonatologia e pediatria: canina e felina. Interbook, São Paulo, 2005, p. 30- 341.

PRESTES, N. C.; LANDIM-ALVARENGA, F. C. **Obstetrícia veterinária.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 42.

RESNIK, R. **Intrauterine growth restriction.** *Obstetrics & Gynecology*, v. 99, p. 490-496, 2002.

REYNOLDS, L. P.; REDMER, D. A. **Angiogenesis in the placenta.** *Biology of Reproduction*, North Dakota, v. 64, n. 4, p. 1033-1040, 2001.

ROSA, L. G. P. **Mensuração de pressão arterial em cadelas gestantes.** *Anais do Conic-Semesp*, São Paulo, v. 6, 2018.

RUFINO, A. K. B.; RODRIGUES, R. P. S.; SILVA, A. B. S.; BARBOSA, M. A. P. S.; MACEDO, K. V.; SOUSA, F. C. A.; MARQUES, D. C.; COSTA, A. P. R.; ALVES, F. R. **Presumed Normal Hemodynamic Values of the Arteries in the Final Third Period of Gestation in Bitches.** *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 49, p. 1849, 2022.

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

SILVA, L. C. G. **Parâmetros clínicos, hemogasométricos e radiográficos para avaliação respiratória de neonato caninos nascidos em eutocia ou cesariana eletiva.** Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SIMÕES, C. R. B.; SANTOS, R. V.; SILVA, C. L.; PRESTES, N. C.; VULCANO, L. C.; MACHADO, V. M. V. **Ultrassonografia Doppler na avaliação da gestação em cadelas.** In: Simpósio Internacional de Diagnóstico por Imagem. 2011. Revista Medicina Veterinária. Recife, v. 5, p. 142-144.

STEER, C. V.; CAMPBELL, S.; PAMPIGLIONE, J. S.; KINGSLAND, C. R.; MASON, B. A.; COLLINS, W. P. **Transvaginal colour flow imaging of the uterine arteries during the ovarian and menstrual cycles.** Human Reproduction, v. 5, p. 391-395, 1990.

STUART, B.; DRUMM, J.; FITZGERALD, D. E.; DIUGNAN, N. M. **Fetal blood velocity waveforms in normal pregnancy.** British Journal of Obstetrics and Gynaecology, v. 87, p. 780-785, 1980.

TEIXEIRA, M. J. D.; WISCHRAL, A. **Avaliação do desenvolvimento fetal e acompanhamento da gestação e parto pela ultrassonografia em cadelas.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 32, p. 16-20, 2008.

TIVANE, C.; RODRIGUES, M. N.; FAVARON, P. O.; NETO, A. C. A.; JÚNIOR, E. H. B.; MIGLINO, M. A. **Mechanisms of calcium transport across the placenta.** Journal of Anim Scien, v. 3, p. 13-20, 2013.

TORRES, N. F.; MARETTO, V.; FAES, M. R.; CARVALHO, M.; RAMOS, J. L. G.; MONTEIRO, S. C.; CUNHA, I. C. N. **Ultrassonografia Triplex Doppler da artéria umbilical para indicação do momento da cesariana em bulldogs francês.** Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 22, 2017, Santos, SP. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 2017. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 41, n. 1, p. 569, 2017.

TURAN, O.M.; TURAN, S.; GUNGOR, S.; BERG, C.; MOYANO, D.; GEMBRUCH, U. *et al.* **Progression of doppler abnormalities in growth restriction.** Ultrasound in Obstetrics & Gynecology, v. 32, p. 160-167, 2008.

VANNUCCHI, C. I.; SILVA, L. C. G.; LÚCIO, C. F.; REGAZZI, F. M.; VEIGA, G. A. L.; ANGRIMANI, D. S. **Prenatal and Neonatal Adaptations with a Focus on the Respiratory System**. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 47, p. 177–181, 2012.

VEIGA, G. A. L. **Caracterização das alterações hemodinâmicas do útero em cadelas com hiperplasia endometrial cística-piometra**. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

VERAS, M. M.; DAMACEN-RODRIGUES, N. R.; CALDINI, E. G.; RIBEIRO, A. A. C. M.; MAYHEW, T. M.; SALDIVA, P. H. N.; DOLHONIKOF, F. **Particulate urban air affects the functional morphology of the mouse placenta**. *Biology of Reproduction*, Champaign, v. 79, p. 578-584, 2008.

VONNAHME, K. A.; WILSON, M. E.; FORD, S. P. **Relationship between placental vascular endothelial growth factor expression and placental/endometrial vascularity in the pig**. *Biology of Reproduction*, USA, v. 64, p. 1821-1825, 2001.

WALLENBURG, H. C. S. **Hemodynamics in hypertensive pregnancy**. *In*: Rubin PC, editor. *Hypertension in Pregnancy*. 1st ed. Amsterdam: Elsevier; 1988. p. 66-101.