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

Alexandre Luiz da Costa Bicudo<sup>1</sup>
Maria Jaqueline Mamprim<sup>2</sup>
Maria Denise Lopes<sup>3</sup>
Luiz Carlos Vulcano<sup>4</sup>
Ana Augusta Pagnano Derussi<sup>1</sup>

#### **RESUMO**

Nenhuma avaliação clínica ou a receptividade à cobrição pelo macho são métodos seguros para detectar com exatidão a ocorrência e o dia da ovulação nas cadelas. Algumas fêmeas podem ovular no quinto dia do ciclo estral, enquanto em outras a ovulação pode ocorrer até o trigésimo dia. A técnica mais recente para determinar a ovulação na cadela é a exploração ovariana por ultra-sonografia. Portanto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a dinâmica do desenvolvimento folicular em cadelas pelo exame ultra-sonográfico convencional e determinar os valores dopplerfluxométricos da artéria intra-ovariana, para detectar com segurança a ovulação nas cadelas. Foram utilizadas 05 cadelas no início da fase de pró-estro, submetidas a exames ultra-sonográficos seriados. Foram avaliados o desenvolvimento de 07 folículos desde o crescimento inicial até a formação do corpo lúteo, utilizando ultra-som no modo B com transdutor de 10Mhz. A imagem ultra-sonográfica convencional possibilitou acompanhar o desenvolvimento folicular e ou colapso e formação de corpo lúteo em 85,7% dos folículos observados. O uso da técnica Doppler foi possível durante todo o período do pró-estro e estro e a média obtida da velocidade máxima do pico sistólico da artéria intra-ovariana foi de 26,41cm/s. O índice de resistência (IR) apresentou um declínio no dia da ovulação até 24 horas após, e o seu valor variou de 0,44 - 0,59 neste período. O IP apresentou oscilações com declínio desde 120 horas antes até 24 horas depois da ovulação e seu valor nesse período foi de  $0.57 \pm 1.1$ .

Palavras-chave: ovário, doppler, folículo, estro, cadelas.

<sup>1</sup> Mestrando do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da FMVZ – UNESP – Campus de Botucatu. Distrito de Rubião Junior- Botucatu- SP-Brasil, CEP 18.618-000. Email: <a href="mailto:bic\_tricolor@yahoo.com.br.">bic\_tricolor@yahoo.com.br.</a> Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Bicudo ALC. et al. Avaliação ultra-sonográfica convencional e dopplerfluxométrica durante a fase folicular do ciclo estral de cadelas. Vet. e Zootec. 2010 dez.; 17(4): 507-518.

Apoio financeiro realizado pela Capes

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Professora Adjunta do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ – UNESP Campus de Botucatu. Distrito de Rubião Junior- Botucatu- SP- Brasil, CEP 18.618-000. Email: jaquelinem@fmvz.unesp.br. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Professora Adjunta do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ – UNESP Campus de Botucatu. Distrito de Rubião Junior- Botucatu- SP- Brasil, CEP 18.618-000. Email: <a href="mailto:denise@fmvz.unesp.br">denise@fmvz.unesp.br</a>. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Professor Adjunto do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ – UNESP – Campus de Botucatu. Distrito de Rubião Junior- Botucatu- SP- Brasil, CEP 18.618-000. Email: <a href="wulcano@fmvz.unesp.br">wulcano@fmvz.unesp.br</a>. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

# CONVENTIONAL ULTRASOUND EXAMINATION AND DOPPLERFLUXOMETRY OF OVARIAN OF BITCH, DURING THE FOLLICULAR PHASE OF THE OESTRAL CYCLE

#### **ABSTRACT**

No clinical evaluation on the mating receptivity for the male is a safe method to detect with exactness the occurrence of ovulation. Some females can ovulate in the fifth day of the oestral cycle, while in others ovulation can occur until the thirtieth day. The most recently technique to determine ovulation on bitches is the ovary exploration by ultrassonography. Therefore, the aim of this work was to evaluate the dynamics on the follicular development in bitches by conventional ultrassonography and determinate the dopplerfluxometric values of the intraovarian artery, in order to detect with security the ovulation on bitches. For this, 05 bitches at the beginning of proestrous had been used, submitted to serial examinations ultrassonography. It was evaluated the development of 07 follicles since the initial growth until the formation of the corpora lutea, using ultrasound on B mode with a 10Mhz transducer. The conventional ultrassonography image made it possible to follow the follicular development and/or collapse and formation of corpora lutea in 85.7% of the follicules observed. The use of the Doppler technique was possible during all the period of proestrous and estrous and the average of the maximum velocity of the sistolic peak of the intra-ovarian artery was 26.41cm/s. The resistance index (IR) presented a decline at the day of ovulation until 24 hours, and its value varied of  $0.44 \pm 0.59$  in this period. The IP presented oscillations with decline since 120 hours before until 24 hours after the ovulation and its value in this period was 0.57±1.1.

**Key words**: ovary, doppler, follicule, estrous, bitch.

# EVALUACIÓN DEL ULTRASONIDO CONVENCIONAL Y DOPPLERFLUJOMETRICA DURANTE LA FASE FOLICULAR DEL CICLO ESTRAL DE PERRAS

#### **RESUMEN**

Ninguna evaluación clínica o la recepitividad a la cubricionón por el macho son métodos seguros para ocurrencia y el día de la ovulación en las perras. Algunas hembras pueden ovular en el quinto día del ciclo estral, mientras que en otras la ovulación puede ocurrir hasta el trigésimo día. La técnica más reciente para determinar la ovulación en la perra es la exploración ovariana por ultrasononido. Por lo tanto, este presente trabajo tuvo por objetivo evaluar la dinámica del desarrollo folicular en perras por el examen ultrasonográfico convencional y determinar los valores dopplerflujométricos de la artéria intraovariana, para detectar con seguridad la ovulación en las perras. Fueran utilizadas 05 perras en el inicio de la fase proestro, sometidas a exámenes ultrasonográficos seriados. Fueran evaluados el desarrollo de 07 folículos desde el crecimiento inicial hasta la formación del cuerpo lúteo, utilizando ultrasonido en el modo B con transductor de 10 Mhz. La imagen ultrasonográfica convencional posibilitó acompañar el desarrollo folicular y o colapso y formación del cuerpo lúteo en 85,7 % de los folículos observados. El uso de la técnica Doppler fue posible durante todo el período del proestro y estro y el promedio obtenido de la velocidad máxima del pico sistólico da la artéria intraovariana fue de 26,41 cm/s. El índice de resistência (IR) presentó un declive en el día de la ovulación hasta 24h después, y su valor varió de 0,44- 0,59 en este

período. El IP presentó oscilaciones con declive desde 120 horas antes hasta 24 horas después de la ovulación y su valor en ese período fue de  $0.57 \pm 1.1$ .

Palabras claves: ovario, doppler, folículo, estro, perra.

# INTRODUÇÃO

As cadelas são monoéstricas e possuem ovulação espontânea. A atividade sexual desses animais é controlada por hormônios protéicos e esteróides, dividindo o ciclo estral em quatro fases. O anestro é referido como período em que não há atividade ovariana. O proestro é caracterizado pelo alto nível de estrógeno e compreende o período em que a fêmea apresenta sinais de atração para o macho; é o período no qual os folículos ovarianos estão em crescimento. O estro compreende a fase na qual a fêmea aceita o macho, há aumento dos níveis séricos de progesterona com a ocorrência das ovulações, em geral, observada 24 a 72 horas após o pico de hormônio luteinizante (LH). No diestro há o predomínio da progesterona e presenca de corpos lúteos (1)

O uso de dosagens hormonais para reconhecimento da ovulação nas cadelas é bastante discutido. A onda pré-ovulatória do LH e a secreção do FSH estão intimamente relacionadas à ocorrência da ovulação, porém, a correlação entre essas gonadotrofinas é complexa, devido a uma regulação diferencial da secreção de FSH e LH nessa espécie (2)

Os ovários de cadelas são estruturas difíceis de serem avaliadas ao exame ultrasonográfico em virtude do seu tamanho pequeno, da sua ecogenicidade ser semelhante a dos tecidos adjacentes, por serem envoltos por uma bolsa de gordura e por sua localização superficial (3). Durante o anestro os ovários são menores e não apresentam estruturas em seu parênquima, portanto, a sua ecogenicidade vai se apresentar mais homogênea e semelhante aos tecidos adjacentes. Nas outras fases do ciclo estral, os ovários podem ser localizados com maior facilidade devido ao aparecimento dos folículos em crescimento e corpos lúteos (4).

A técnica mais atual para a determinação da ovulação na cadela é a exploração ovariana por ultra-sonografia. Infelizmente a interpretação da imagem ultra-sonográfica dos ovários das cadelas, próximo da ovulação, é mais difícil de que em outras espécies. Estudos conduzidos por England et al. (3) demonstraram que o aspecto dos folículos ovarianos, imediatamente antes e logo após a ovulação, é muito semelhante. Alguns folículos não colapsam no momento da ovulação (3, 5, 6), além disso, é frequente permanecerem folículos não ovulados após o processo de ovulação (7).

Com a modalidade de Doppler colorido e espectral essa investigação foi facilitada, pois possibilitou a detecção dos vasos, bem como as velocidades do fluxo sanguíneo nessas regiões. Essa evolução pôde auxiliar na detecção de diferentes impedâncias no fluxo sanguíneo entre mulheres férteis e inférteis e analisar a receptividade da mulher à fertilização in vitro (8).

As dificuldades em se detectar o momento da ovulação nas cadelas são muitas, portanto, a existência de uma sinalização de que a Dopplerfluxometria, a exemplo do que ocorre nas mulheres, possa auxiliar esse processo estimulou a realização desse trabalho. Em vista da literatura consultada, ainda hoje, o exame ultra-sonográfico do ovário em cadelas, apesar de muito solicitado, é uma prática que necessita de avaliações mais detalhadas, com acompanhamento seriado e associação com outros exames complementares. Portanto, o objetivo desse trabalho foi o de avaliar o grau de confiabilidade e rigor do exame ultrasonográfico, em modo B e a determinação da Dopplerfluxometria das artérias intra-ovarianas, para uma detecção segura da ovulação nas cadelas.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 05 fêmeas da espécie canina, adultas, sem interesse racial, com peso de até 10 kg e em início da fase folicular do ciclo estral. A determinação do pro-estro foi realizada por meio da observação das alterações comportamentais, edema de vulva, secreção vaginal sanguinolenta, atração dos machos, exame de citologia vaginal e dosagem de progesterona sérica. Após identificação da fase de pro-estro, as fêmeas foram submetidas a exames ultra-sonográficos pelo modo B, Doppler colorido e espectral no mínimo a cada 48 horas.

Os exames foram realizados com um equipamento de ultra-som da Marca GE<sup>1</sup> modelo LOGIC 3, no Modo-B em tempo real e duplex *Doppler*, com transdutores multifrequencial linear de banda variável de 6 - 10 MHz, sendo a frequência escolhida de acordo com o porte do animal.

Para evitar artefatos de técnica as fêmeas foram submetidas a um preparo prévio de jejum alimentar. Os animais foram submetidos à tricotomia ampla do abdômen ventral, desde o 10° espaço intercostal até o púbis, e lateralmente, na mesma extensão, até a região dos músculos sublombares. Os animais foram posicionados em decúbito lateral direito, lateral esquerdo, dorsal e em estação, para facilitar a mensuração dos parâmetros ovarianos. Uma camada de gel² foi espalhada sobre o abdome para melhor contato entre o transdutor e a pele.

Durante o exame ultra-sonográfico foram realizados planos de cortes sagitais e transversais, para se detectar os folículos e obter suas mensurações. Após identificação e mensuração dos folículos, medida do seu eixo maior e volume, os dados foram transcritos em fichas individuais com desenho da localização das estruturas nos ovários (figura 1), e o volume em mL foi obtido automaticamente pelo equipamento; esse procedimento foi realizado e repetido até o momento do provável colapso do folículo. Após, foram realizadas medidas da parede interna e externa, do provável corpo lúteo, também representada em volume.

Em seguida ao exame de ultra-som convencional realizou-se exames de *Doppler* colorido qualitativo para a detecção da artéria intra-ovariana. Neste caso, o cursor foi colocado sobre a artéria com um ângulo de insonação menor ou igual a 60°, para avaliação quantitativa dos índices de resistividade (IR) e índice de pulsatilidade (IP) e velocidade do pico sistólico da artéria intra-ovariana. Para a determinação dos índices, foram obtidas três mensurações das velocidades do fluxo sanguíneo, com no mínimo três ondas semelhantes.

Para os ensaios de progesterona plasmática foi utilizado *KIT* comercial de radiomunoensaio em fase sólida, sem extração química ou processo de purificação (Diagnosis Procedure Corporation – progesterone Coat – a –count, Los Angeles, USA) valido para plasma canino (9).

Os exames citológicos foram obtidos com o uso de escova ginecológica, introduzida no canal vaginal com auxilio de um rinoscópio. As laminas foram coradas pelo método de coloração do tipo Panótico (Hematocor<sup>®</sup>). A identificação dos tipos celulares foi baseada nos critérios adotados por Johnston et al. (10) baseando-se na porcentagem de células superficiais, sob microscopia de luz (aumento de 200x).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ultra-sonografia surgiu como uma modalidade de diagnóstico por imagem, primeiro, na medicina humana e posteriormente na medicina veterinária, sendo hoje uma prática

\_

<sup>1</sup> GE -Medical System- Ltda

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> ULTRA-GEL®Multigel Ltda- São Paulo -SP

imprescindível para o diagnóstico seguro e precoce de inúmeras doencas. Além disso, a ultrasonografia tem um papel importante no diagnóstico precoce de gestação das diversas espécies domésticas facilitando o manejo reprodutivo.

Uma etapa fundamental para o controle do ciclo reprodutivo das cadelas é o acompanhamento ultra-sonográfico do crescimento folicular e formação luteal, por isso a importância de se desenvolver pesquisas no sentido de acrescentar informações para se determinar o dia provável de ovulação nas cadelas. Para acrescentar subsídios a essa investigação se realizou a Dopplerfluxometria da artéria intra-ovariana, determinação dos índices de resistividade e pulsatilidade e velocidade do pico sistólico durante a fase de próestro e estro das cadelas.

A despeito de todas essas dificuldades, a presenca de gases e fezes nas alcas intestinais foram as dificuldades mais significativas. Portanto, torna-se necessário o preparo prévio do animal com jejum alimentar de 12h e administração de substâncias antifiséticas. Também a tricotomia associada ao uso do gel facilita a visualização dos ovários, pois aumenta a aderência da probe com a pele, melhorando o manuseio e a movimentação do transdutor.

No exame ultra-sonográfico, a posição do animal durante a avaliação deve ser considerada. Uma das situações observadas foi a inquietação de algumas fêmeas durante o exame, devido ao tempo normalmente longo, utilizado para visualizar os ovários, direito e esquerdo, mensurações e avaliações das suas estruturas. Para contornar essa situação era permitido que os animais permanecessem na sala de exame para ambientação, eram mantidos na penumbra e em silêncio; geralmente após esse procedimento se tranquilizavam, dormiam e desta forma o exame podia prosseguir sem problemas.

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

Uma das maiores dificuldades encontradas no monitoramento dos folículos durante a fase de pró-estro foi o tamanho pequeno de algumas estruturas foliculares e a identificação segura dos vários folículos em crescimento, por isso, o acompanhamento diário ou no mínimo a cada 48 horas é de suma importância (11). Para contornar esse problema utilizou-se um esquema no qual era desenhado o posicionamento das estruturas com a finalidade de facilitar a identificação da mesma imagem no dia seguinte (Figura 1). Optou-se também, pela avaliação e mensuração do folículo maior que denominamos de principal, desta forma, tentouse estabelecer uma metodologia de avaliação e medição dos folículos e dos corpos lúteos.

Foram avaliados o desenvolvimento de 07 folículos em todas as cadelas, desde o crescimento inicial até a formação do corpo lúteo O processo de ovulação nas cadelas não é simultâneo, ou seia, da primeira até a última ovulação decorre um tempo de aproximadamente 24 horas, portanto, os folículos se desenvolvem de forma assincrônica o que dificulta ainda mais a medição de todos os folículos. Por isso o acompanhamento folicular neste trabalho mediu apenas as estruturas maiores, as quais foram avaliadas até a formação luteal.

De acordo com os trabalhos de England & Allen (12) e Haver et al. (5) os primeiros folículos ovarianos foram detectados quatro dias após o início do proestro e mediam 4mm de diâmetro. A primeira identificação dos folículos ovarianos, neste trabalho, foram realizadas no segundo e terceiro dia do início do pró-estro e mediam entre 2,5 a 4,5mm.

Após o inicio do crescimento folicular, foi observado um aumento crescente dos folículos e os folículos pré-ovulatórios atingiram em média, cerca de 3,2 a 6,7mm. Esses valores foram semelhantes aos de England & Allen (13) no momento da onda de LH, entretanto, foram inferiores aos resultados de Yeager & Concannon (14), cujos valores foram de 8 a 9 mm, de England & Allen (12) e Hayer et al. (5) com valores de 6 a 9 mm, e England & Allen (13) com valores de 7 a 11mm, próximo as ovulações.

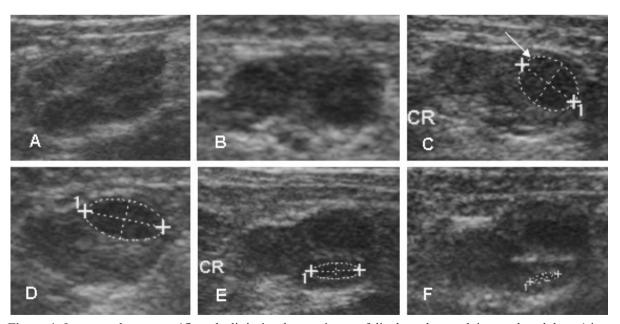
Nossas avaliações foliculares mínimas e máximas foram menores do que a descrita pela maioria dos autores, entretanto, temos que considerar as diferenças raciais, incluindo o tamanho e peso dos animais avaliados.

A avaliação de estruturas ovarianas tais como o desenvolvimento folicular, a ovulação e a presença de corpo lúteo, requerem um transdutor de alta resolução e exames diários ao longo do ciclo para a observação de alterações das imagens observadas (4, 15, 16). Segundo Fontbone & Malandaim (11) independente da raça, as dimensões dos folículos pré-ovulatórios variam entre 6 a 9 mm e normalmente, a ultra-sonografia subestima o número de folículos.

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

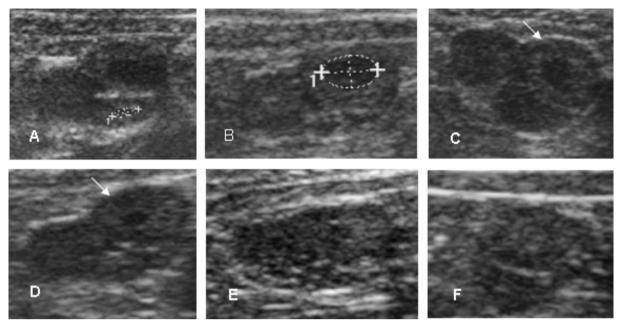
De acordo com o trabalho de Fontbonne & Malandain (11), as dosagens de progesterona no momento das ovulações revelou-se constante com valores de 6,25± 1.55 ng/mL. Infelizmente nossos resultados de progesterona e citologia vaginal foram inconsistentes, não sendo possível estabelecer uma correlação com os achados ultrasonográficos.

Na cadela nº 01, ovário esquerdo, o segundo folículo considerado, apresentou uma imagem ultra-sonográfica compatível com ovulação, nesse momento a concentração de progesterona estava ao redor de 4,35 ng/mL, com 88% de células superficiais na avaliação citológica (Tabela 1). No animal nº 02 (Tabela 2, Figura 1, 2 e 3), a progesterona apresentou resultados próximos de 7,6 ng/mL, com citologia de 92% de células superficiais e com imagem ultra-sonográfica característica de ovulação. Na cadela nº 03 o colapso folicular não foi visualizado, porém, do segundo para o terceiro dia, a estrutura circunscrita anecóica de parede regular desapareceu, sendo substituída por uma estrutura hipoecogênica. Provavelmente a ovulação ocorreu no dia 3 e 4 da avaliação (Tabela 3). Já a cadela nº 04 (Tabela 4), apresentou concentração sérica de progesterona de 1,09 ng/mL, citologia de 60% de células superficiais, no dia em que a imagem circunscrita anecóica foi substituída por uma imagem hipoecogênica de contornos irregulares. Na fêmea nº 05 (Tabela 5) apenas a citologia vaginal foi compatível com a imagem ultra-sonográfica de ovulação, 89% de células superficiais, embora essa avaliação isoladamente não identifique com segurança a onda préovulatória de LH e nem as ovulações (17).

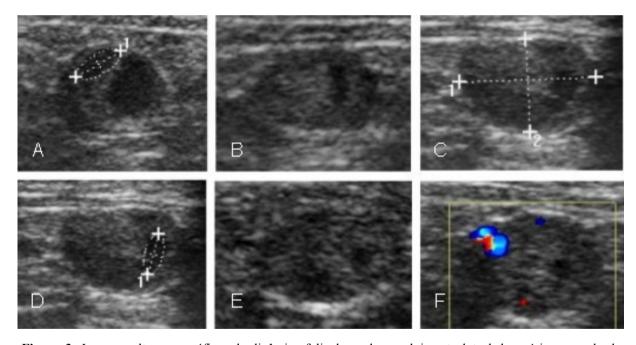


**Figura 1:** Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do crescimento folicular e desenvolvimento luteal do ovário direito do animal n° 02. **A** – dia 1. **B** – dia 2. **C** – dia 4. **D** – dia 5. **E** – dia 6. **F** – dia 7.

Bicudo ALC. et al. Avaliação ultra-sonográfica convencional e dopplerfluxométrica durante a fase folicular do ciclo estral de cadelas. Vet. e Zootec. 2010 dez.; 17(4): 507-518.



**Figura 2:** Imagens ultra-sonográficas da dinâmica do desenvolvimento luteal do ovário direito do animal n° 02. **A** – dia 7; **B** – dia 9; **C** dia 10; **D** – dia 12; **E** dia 14;. **F** – dia 16.



**Figura 3:** Imagens ultra-sonográficas da dinâmica folicular e desenvolvimento luteal do ovário esquerdo do animal  $n^{\circ}$  02. A – dia 1; B – dia 2; C – dia 4; D – dia 7; E – dia 11, detecção da vascularização intra-ovariana; F – 15.

Tabela 1. Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica, do ovário esquerdo, medida da parede externa do folículo nº 01 (mL/mm) e acompanhamento luteal por medida externa da estrutura, IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana da cadela nº 01, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

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

Tabela 2. Resultados de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, dias de avaliação ultra-sonográfica do crescimento folicular por medida externa e avaliação luteal pela medida da parede externa da maior estrutura (mL/mm) do ovário direito, IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana da cadela nº 02, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

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

Bicudo ALC. et al. Avaliação ultra-sonográfica convencional e dopplerfluxométrica durante a fase folicular do ciclo estral de cadelas. Vet. e Zootec. 2010 dez.; 17(4): 507-518.

Tabela 3. Dias de avaliação ultra-sonográfica, medida da parede externa do maior folículo e avaliação luteal pela medida da parede interna do corpo lúteo (mL/mm), concentração de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana do ovário direito da cadela nº 03, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

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

**Tabela 4.** Dias de avaliação ultra-sonográfica, medida da parede externa do maior folículo e avaliação luteal pela medida da parede interna do corpo lúteo (mL/mm) do ovário direito, concentração de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana do ovário direito da cadela n° 04, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

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

Tabela 5. Dias de avaliação ultra-sonográfica, medida da parede externa do maior folículo e avaliação luteal pela medida da parede interna do corpo lúteo (mL/mm) do ovário esquerdo, concentração de progesterona sérica em ng/mL, porcentagem de células superficiais, IR e IP e velocidade do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana do ovário esquerdo da cadela nº 05, durante a fase folicular do ciclo estral. Botucatu, 2008.

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

No presente estudo as velocidades do pico sistólico das cadelas variaram de 10,45 a 33,5cm/s durante o período de pro-estro e estro, a média da máxima VPS nesse período foi de 26,41cm/s. Considerando o mesmo período do ciclo estral os valores encontrados por Koster et al. (18) foram menores, atingindo o máximo 23,89cm/s, assim como os dados descritos por Tan et al. (19).

Essa velocidade máxima de fluxo sanguíneo (VPS) foi encontrada em 16,67%, 120 horas antes da ovulação; 16,67%, 96 horas antes; 33,33%, 24horas antes; 16,67% no dia e 16,66%, 24 horas depois da ovulação. Esses dados são parcialmente semelhantes aos encontrados por Tan et al. (19), que detectaram essa mudança de VPS intra-ovariano de mulheres de 24horas antes a 36horas depois do surgimento de LH, podendo chegar a 23,5cm/s.

Com relação às seis ovulações detectadas nos ovários estudados observamos que o IR apresentou uma redução no dia da ovulação em 33,33% dos ovários; 66,67%, 24horas depois da ovulação e os valores próximos à ovulação variaram de 0,44 - 0,59 apresentando uma média de 0,53. Esses valores são superiores quando comparamos com os dados do ciclo menstrual de mulheres descritos por Bourne et al. (8), onde o IR é de 0,44 +/- 0,04 próximo da ovulação e 0.43+/-0.04 após a ovulação e semelhantes aos descritos por Koster et al. (18) onde o IR foi de 0,60 a 0,57 nesse mesmo período.

Por outro lado, quando analisamos a variação do IP dos ovários estudados, observamos quedas oscilantes de 120 horas antes, até 24 horas depois, da ovulação. De uma maneira geral observamos uma queda considerável dos valores do IP no dia da ovulação em 50% dos casos e 50% 24 horas depois da ovulação e o valor do IP variou nesses de 0,57-1,1. Portanto os valores do IP nos dias observados pré e pós-ovulação foram oscilantes na maioria das cadelas, mas semelhantes aos descritos por Tan et al. (19) e Koster et al. (18) que descreveram uma queda significativa de IP após a ovulação em mulheres.

Existem pequenas diferenças no valor dos índices de resistividade, pulsatilidade e valores de VPS entre esse trabalho e dos autores consultados, Outras pesquisas devem ser

Bicudo ALC, et al. Avaliação ultra-sonográfica convencional e dopplerfluxométrica durante a fase folicular do ciclo estral de cadelas. Vet. e Zootec. 2010 dez.; 17(4): 507-518.

realizadas para definir o valor desses parâmetros durante o ciclo reprodutivo das cadelas. Características quanto à taxa de ovulação, peso e porte dos animais, sincronismo das ovulações devem ser considerados.

## **CONCLUSÕES**

A realização do exame ultra-sonográfico convencional com transdutor linear de 10Mhz possibilitou a detecção de 100% dos ovários de cadelas em torno de 10kgs de peso durante todo o período de pro-estro e estro. A utilização de transdutores de alta resolução favoreceu o acompanhamento do desenvolvimento folicular, colapso e formação de corpo lúteo em 85,7% dos folículos observados. É possível detectar a imagem do Doppler colorido tanto como a onda espectral das artérias intra-ovarianas durante todo o período de proestro e estro.

Trabalho aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal em: 19 de maio de 2006

# REFERÊNCIAS

- 1. Concannon PW, Mccann JP, Temple M. Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. J Reprod Fertil. 1989; 39 Suppl: 3-25.
- 2. Reynaud K. In vivo meiotic resumption, fertilization and early embrionary development in the bitch. Reproduction. 2005; 130: 193-201.
- 3. England GC, Yeager A, Concannon PW. Ultrasound imaging of the reproductive tract of the bitch. In: Recent advances in small animal reproduction. Ithaca; 2003 [cited 2003 Jul 21]. Available from: < http://www.ivis.org>.
- 4. Jarreta GB. Ultra-sonografia do aparelho reprodutor feminino. In: Carvalho FC, editor. Ultra-sonografia em pequenos animais. São Paulo: Rocca; 2004. p.181-8.
- 5. Hayer P, Gunzel-Apel AR, Luerssen D, Hoppen HO. Ultrasonographic monitoring of follicular development, ovulation and early luteal phase in the bicth. J Reprod Fertil. 1993; 47 Suppl: 93-100.
- 6. England GC, Yeager AE. Ultrasonographic appearance of the ovary and uterus of the bicth during oestrus, ovulation and early pregnancy. J Reprod Fertil. 1993; 47 Suppl: 107-17.
- 7. Wallace SS, Mahaffey DM, Thompsons FN. Ultrassonografy of the dog ovary during follicular and early luteal phases. J Reprod Fertil. 1989; 39 Suppl: 331.
- 8. Bourne TH, Jurkovic D, Waterstone J, Campbell S, Collins WP. Intrafolicular blood flow during human ovulation. Ultrasound Obstet Gynecol. 1991; 1:53-9.
- 9. Sladkevicius VL, Marsal K. Blood flow velocity in the uterine and ovarian during the normal mesntrual cycle. Ultrasound Obstet Gynecol. 1993; 3: 199-208.
- 10. Johnston SD, Kustritz MV, Olson PN. Disorders of canine ovary. In: Johnston SD, Kustritz MV, Olson PN, editors. Canine and feline theriogenology. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders; 2001. p.193-205.

- 11. Fontbonne A, Malandain E. Ovarian ultrasonography and follow-up of estrus in the bitch and queen. Waltham Focus. 2006; 16: 22-9.
- 12. England C, Allen WE. Real time ultrasonic imaging of the ovary and uterus of the dog. J Reprod Fertil. 1989a; 39 Suppl: 191-200.
- 13. England GEW, Allen WE. Ultrasonographic and histological appearance of the canine ovary. Vet Rec. 1989b; 125: 555-6.
- 14. Yeager AE, Concannon PW. Association between the preovulatory luteinizing hormone surge and the early ultrasonographic detection of pregnancy and fetal heartbeats in beagle dogs. Theriogenology. 1990; 34: 655-65.
- 15. Boyd JS, Renton JP, Harvey MJ, Nickson DA, Eckersall PD, Ferguson JM. Problems associated with ultrasonography of the canine orary around the time of ovulation. J Reprod Fertil. 1993; 47 Suppl: 101-5.
- 16. Nyland TG, Matton JS. Small animal diagnostic ultrasound. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Sauders; 2002.
- 17. England G, Concannon PW. Determination of the optimal breeding time in the bitch: basic consideration. In: Concannon PW, England G, Verstegen J, Linde-Forsberg C, editors. Recent advances in small animal reproduction. Ithaca; 2002 [cited 2006 Dez 13]. Available from: <a href="http://www.ivis.org">http://www.ivis.org</a>.
- 18. Koster K, Nautrup CP, Gunzel-Apel AR. A doppler ultrasonographic of cyclic changes of ovarian perfusion in the beagle bitch. Reproduction. 2001; 122: 453-61.
- 19. Tan SL, Zaidi J, Campbell S, Doyle P, Collins W. Blood flow changes in the ovarian and uterine arteries during the normal menstrual cycle. Am J Obstet Gynecol. 1996; 175: 625-31.

Recebido em: 05/12/2008 Aceito em: 16/09/2009