



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

JULIA RODRIGUES GREGHI

**ANÁLISE BIOQUÍMICA DO LÍQUIDO AMNIÓTICO E
HISTOPATOLOGIA DA PLACENTA COMO MARCADORES
DA VIABILIDADE DE NEONATOS CANINOS**

Londrina
2023

JULIA RODRIGUES GREGHI

**ANÁLISE BIOQUÍMICA DO LÍQUIDO AMNIÓTICO E
HISTOPATOLOGIA DA PLACENTA COMO MARCADORES
DA VIABILIDADE DE NEONATOS CANINOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Isabel Mello Martins

Londrina
2023

G819a Greghi, Julia Rodrigues.

Análise bioquímica do líquido amniótico e histopatologia da placenta como marcadores da viabilidade de neonatos caninos / Julia Rodrigues Greghi. - Londrina, 2023.
71 f. : il.

Orientadora: Maria Isabel Mello Martins.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2023.

Inclui bibliografia.

1. Anexos fetais - Tese. 2. Distocias - Tese. 3. Neonatologia - Tese. 4. Hipóxia - Tese. I. Mello Martins, Maria Isabel. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 619

JULIA RODRIGUES GREGHI

**ANÁLISE BIOQUÍMICA DO LÍQUIDO AMNIÓTICO E
HISTOPATOLOGIA DA PLACENTA COMO MARCADORES DA
VIABILIDADE DE NEONATOS CANINOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Isabel Mello
Martins
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Ana Paula Loureiro Bracarense
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Carlos Eduardo Ambrósio
Universidade de São Paulo - USP

Londrina, 27 de fevereiro de 2023.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à minha família – mamãe Célia, papai Gregghi, Lucas e Tiago -, pela união, pela presença e por todo o amor que me faz querer sempre mais e mais. Vocês me inspiram, meu sucesso é resultado de tudo que vocês batalharam para me colocar onde estou.

Ao Matheus Dário, meu parceiro de vida e de profissão, meu alicerce, minha força e todo o meu amor. O incentivo, o coração aberto, a cumplicidade e seu suporte foram essenciais para eu chegar aqui. Agradeço por acreditar no meu potencial, pelos conselhos, pelo colo e sua presença diária.

À minha orientadora, Profa Dra Maria Isabel Mello Martins, que me proporcionou essa oportunidade incrível e nunca subestimou minha capacidade nos desafios acadêmicos. Abriu portas desde a graduação e, agora, cá estou finalizando a segunda jornada da pós-graduação. Foi uma amiga, me ensinou sobre o trabalho e a vida, me acolheu na dúvida, na dificuldade e me recebeu em casa como família.

Ao Laboratório de Andrologia e Reprodução Animal Assistida (LARAA) que foi muito mais que meu ambiente de trabalho, mas a minha segunda casa de dedicação diária. Dentro desse lugar eu pude conhecer a minha parceira para todas as horas, Myrian Hidalgo, que foi professora, melhor amiga e nunca soltou a minha mão. E meus outros três pilares de estudos, companhia e cumplicidade: Vinícius Wagner, Natália Sambatti e Letícia Silva. Por fim, não menos importante, ao Prof. Dr. Luiz Guilherme Corsi que sempre se dispõe dia e noite para me ajudar, para me ensinar e estudar comigo – além dos nossos passeios para falar da vida e acalantar o coração.

Ao Prof. Dr. Phelipe Favaron, eu diria que foi um presente fazer parte da equipe e conhecê-lo. Me ajudou a descobrir um mundo novo – me ensinou do zero, esteve presente em cada etapa – e agora também faz parte da minha jornada acadêmica. Serei eternamente grata pela confiança e pela acolhida. Agradeço também ao Caio Garcia que sustentou o perrengue comigo e foi meu parceiro de laboratório, me acompanhou no novo e hoje faz parte do meu ciclo.

À equipe do HV-UEL, laboratório de Patologia Clínica, a turma de pós-graduação, todo mundo que teve participação na correria, na burocracia e

dedicação para que o trabalho acontecesse. Em especial, agradeço minha amiga Jullia Landi, que idealizou o projeto comigo e deu o melhor para que tudo saísse da melhor forma possível. Aprendi demais com essa mulher que só fez crescer meu amor pela neonatologia.

Aos meus amigos da vida toda, em especial, ao Vinícius Wagner – que já foi agradecido antes, mas merece uma dedicatória exclusiva por ser tão importante para mim e para minha família.

À Melissa e o Carlinhos do laboratório de histologia do CCB-UEL, por toda paciência, disponibilidade e amizade que criamos.

À equipe da Dra. Cláudia Hatti por ter me recebido e permitido as etapas do trabalho na clínica.

Aos membros da banca de defesa, Profa. Dra. Ana Paula Bracarense e Prof. Dr. Carlos Ambrósio, pela disponibilidade e dedicação para conclusão deste trabalho.

Ao programa de pós-graduação em Ciência Animal e à CAPES pelo suporte financeiro.

GREGHI, Julia Rodrigues. **Análise bioquímica do líquido amniótico e histopatologia da placenta como marcadores da viabilidade de neonatos caninos**. 2023. 71f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2023.

RESUMO

A maior taxa de mortalidade neonatal nos cães ocorre no período final da gestação, durante o parto e nos primeiros sete dias de vida. Em geral, está relacionada ao tipo de parto, às falhas no manejo clínico e diagnóstico tardio dos doentes. Os anexos fetais são responsáveis pela sustentação e desenvolvimento intrauterino, refletindo diretamente a saúde do recém-nascido, e a avaliação destas estruturas se mostra um ensaio promissor para predição de neonatos de risco. O objetivo deste estudo foi comparar as características bioquímicas do líquido amniótico e histopatológicas da placenta entre neonatos caninos nascidos por cesáreas eletivas e emergenciais, a fim de associar os achados à viabilidade neonatal nas primeiras 24 horas de vida. Foram selecionados 38 neonatos, provenientes de cesáreas eletivas (CEL, n=19) e emergenciais (CEM, n=19). No pós-parto imediato, foi utilizado o escore Apgar para determinação da viabilidade nos tempos de zero (T0) e cinco minutos (T5). O líquido amniótico foi colhido para análise da concentração de seus componentes bioquímicos (alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), creatinina, ureia, proteínas totais (PT), albumina, bilirrubinas totais e direta, lactato, glicose, potássio, cloretos, cálcio e sódio), enquanto a placenta foi submetida a processamento histopatológico para descrição das lesões no labirinto placentário (necrose, hemorragia, infiltrado inflamatório e calcificação) e identificação da disposição de fibras de colágeno por meio da coloração Picrosirius-Hematoxilina. O grupo CEM, em comparação com o grupo CEL, apresentou aumento significativo de FA ($p=0,035$), bilirrubina direta ($p=0,039$), lactato ($p<0,001$), cloretos ($p<0,001$) e potássio ($p=0,031$). A comparação entre os grupos CEL e CEM não evidenciou diferenças entre a presença e extensão das lesões na placenta, contudo foi observada diferença subjetiva na disposição das fibras de colágeno na delimitação das lamelas entre os grupos. Necrose e hemorragia foram as alterações histopatológicas mais frequentes em ambos os grupos. A comparação entre os achados do líquido amniótico e histopatológico evidenciou correlação negativa moderada ($r=-0.609$, $p=0,003$) entre a concentração de glicose e a presença de necrose no labirinto placentário. A partir dos resultados foi possível identificar que a composição do líquido amniótico sofre alterações por influência do tipo de cesárea, possivelmente, causadas pela hipóxia prolongada nos casos de distocia refletindo o *status* metabólico do neonato. Nas condições do experimento, não foram encontradas correlações entre as características histopatológicas da placenta com a viabilidade dos neonatos, porém nota-se variações na disposição das fibras colágenas componentes da matriz extracelular nos casos de distocia.

Palavras-chave: Anexos fetais, biomarcadores, cães, distocia, neonatologia.

GREGHI, Julia Rodrigues. **Biochemical analysis of amniotic fluid and placental histopathology as viability markers in canine neonates**. 2023. 71f. Dissertation (Master's degree in Animal Science) – State University of Londrina, Londrina, 2023.

ABSTRACT

The highest neonatal mortality rate in dogs occurs in the final period of pregnancy, during delivery and in the first days of life. It is related to clinical management failure and late diagnosis. Fetal membranes and placenta are responsible for intrauterine support, development of the fetus and reflect the health of the newborn. Evaluations of these structures are promising assays for predicting at-risk neonates. The aim of this study was to investigate the biochemical characteristics of the amniotic fluid and placental histopathology for comparison between canine neonates born by elective and emergency cesarean sections to associate the findings with neonatal viability in the first 24 hours of life. Totally, 38 neonates were selected, from elective (CEL, n=19) and emergency (CEM, n=19) cesarean sections. Apgar score was used to determine viability at zero (T0) and five minutes (T5), amniotic fluid was collected for biochemical analysis of alanine aminotransferase (ALT), phosphatase alkaline (FA), creatinine, urea, total protein (PT), albumin, total and direct bilirubin, lactate, glucose, potassium, chlorides, calcium and sodium. Placenta was subjected to histopathological processing to the description of lesions in the labyrinth (necrosis, hemorrhage, inflammatory infiltrate and calcification) and to evidence the collagen fiber network using Picrosirius-Hemotoxilin staining. Compared to the CEL group, CEM group showed a significant increase in AF ($p=0.035$), direct bilirubin ($p=0.039$), lactate ($p<0.001$), chlorides ($p<0.001$) and potassium ($p=0.031$). Comparison between the CEL and CEM groups did not show differences ($p>0.05$) between the presence and extent of lesions in the placenta. Necrosis and hemorrhage were the most frequently described histopathological alterations in all groups. The comparison between amniotic fluid and histopathological findings showed a negative correlation ($r=-0.609$) between glucose concentration and the presence of necrosis in the placental labyrinth. It was possible to observe that the composition of the amniotic fluid changes according to cesarean type, possibly caused by prolonged hypoxia, reflecting the metabolic status of the neonate. Under the conditions of the experiment, no correlations were found between the histopathological characteristics of the placenta and the viability of the neonates, but variations were noted in the arrangement of the collagen fibers that make up the extracellular matrix in cases of dystocia.

Keywords: Biomarkers, dystocia, fetal adnexa, hypoxia, neonatology.

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

- Figura 1 -** Representação dos anexos fetais e sua disposição ao redor do feto da cadela..... 20

ARTIGO

- Figura 1 -** Fotomicrografia do labirinto placentário canino com destaque para a estrutura lamelar do cordão de células do trofoblasto..... 49
- Figura 2 -** Fotomicrografia do labirinto placentário canino com destaque para áreas de necrose multifocal e congestão vascular..... 50
- Figura 3 -** Fotomicrografia do labirinto placentário canino com destaque para pequenos focos de calcificação e perda da arquitetura lamelar..... 51
- Figura 4 -** Fotomicrografia do labirinto placentário canino com destaque para hemorragia multifocal..... 53
- Figura 5 -** Fotomicrografia do labirinto placentário canino com destaque para ampla área de necrose com calcificação multifocal..... 54
- Figura 6 -** Fotomicrografia panorâmica do corte histológico da placenta de cãp sob luz polarizada..... 56

Figura 7 -	Fotomicrografia da septação do labirinto placentário, proveniente de cesárea eletiva de cão, a partir de ramificações da placa coriônica.....	57
Figura 8 -	Fotomicrografia de lesão de necrose extensa no labirinto placentário canino.....	58

LISTA DE TABELAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 1 -	Escore Apgar para avaliação da viabilidade de neonatos caninos.....	24
-------------------	---	----

ARTIGO

Tabela 1 -	Classificação dos neonatos caninos provenientes das cesáreas eletivas e emergências, vivos e mortos, de acordo com o escore Apgar no momento imediato do nascimento (T0) e após cinco minutos (T5).....	43
-------------------	---	----

Tabela 2 -	Composição bioquímica do líquido amniótico de 24 neonatos caninos nascidos de cesáreas eletivas (n=14) e cesáreas emergenciais (n=10). Subgrupo de neonatos vivos (n=21) e mortos em até 24 horas (n=3)..	45
-------------------	---	----

Tabela 3 -	Escore de classificação dos achados histopatológicos no labirinto placentário canino, nos grupos de cesáreas eletivas x emergenciais e vivos x mortos em até 24 horas. % (n/n total).....	48
-------------------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ALT	Alanina Aminotransferase
ATP	Adenosina Trifosfato
CEL	Cesáreas Eletivas
CEM	Cesáreas Emergenciais
FA	Fosfatase Alcalina
HE	Hematoxilina-Eosina
LA	Líquido Amniótico
LH	Hormônio Luteinizante
PGF 2 α	Prostaglandina F 2 α
UEL	Universidade Estadual de Londrina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E PLACENTAÇÃO NA ESPÉCIE CANINA.....	16
	2.1.1 Membrana Placentária	17
	2.1.2 Membranas Extraembrionárias	18
2.2	NEONATOLOGIA EM PEQUENOS ANIMAIS.....	21
	2.2.1 Influência do Tipo de Parto	22
	2.2.2 Exames Preditivos da Viabilidade Neonatal.....	23
3	REFERÊNCIAS	28
4	HIPÓTESES	33
5.	OBJETIVOS	34
5.1	OBJETIVO GERAL.....	34
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
6	ARTIGO – BIOMARCADORES DA VIABILIDADE DE NEONATOS CANINOS EM CESÁREAS EMERGENCIAIS E ELETIVAS	35
6.1	INTRODUÇÃO	37
6.2	MATERIAL E MÉTODOS	39
	2.1 Seleção dos animais e procedimento cirúrgico	39
	2.2 Reanimação neonatal, colheita do líquido amniótico e placentas	39
	2.3 Análise bioquímica do líquido amniótico.....	40
	2.4 Histopatologia da placenta	40
	2.4.1 Coloração Picrosirius-Hematoxilina	41
	2.4.5 Análise estatística.....	42
6.3	RESULTADOS	43
	3.1 Achados clínicos e escore Apgar	43
	3.2 Análise bioquímica do líquido amniótico.....	44
	3.3 Histopatologia da placenta	46

	3.4 Comparação entre os achados do líquido amniótico e histopatologia da placenta.....	60
6.4	DISCUSSÃO.....	61
6.5	CONCLUSÃO.....	67
	Órgão de fomento	67
	Referências	68
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71

1 1 INTRODUÇÃO

2 O interesse pela neonatologia de pequenos animais aumentou
3 consideravelmente na última década. O crescimento dos estudos na área justifica-se
4 pelas altas taxas de mortalidade, causando prejuízos no desenvolvimento das raças
5 e impacto socioeconômico. As perdas ocorrem principalmente no período final da
6 gestação, durante o parto e nos primeiros sete dias de vida dos neonatos. Na
7 maioria dos casos, a mortalidade está relacionada ao tipo de parto, à ausência dos
8 cuidados pré-natais com a fêmea, às falhas no manejo clínico e diagnóstico tardio
9 das afecções que acometem os filhotes (PEREIRA et al., 2022; SOUZA et al., 2017).

10 Durante a vida intrauterina, o suporte para o desenvolvimento do
11 conceito provém da placenta, membranas extraembrionárias e líquidos regulados
12 pelo organismo materno. A combinação dessas estruturas é responsável pela
13 nutrição, proteção e troca de substâncias entre a mãe e o feto, promovendo um
14 ambiente ideal para manutenção da gestação (KOWALEWSKI et al., 2021). Dessa
15 forma, a composição e integridade dos anexos são importantes sinalizadores de
16 alterações que possam ocorrer antes e após o nascimento, refletindo diretamente no
17 filhote (BOLIS et al., 2017; CANELLO et al., 2015).

18 Diversos parâmetros são utilizados para avaliar a saúde neonatal
19 desde os primeiros segundos de vida de modo a determinar a qualidade da saúde
20 na vida extrauterina, como o peso ao nascimento (MUGNIER et al., 2019) e o escore
21 de vitalidade neonatal – Apgar (VERONESI, 2016). O conhecimento aprofundado da
22 fisiologia particular dos neonatos e a identificação precoce do paciente de risco são
23 o caminho para minimizar os óbitos nas duas primeiras semanas de vida. A
24 fragilidade do recém-nascido é decorrente da complexidade dos eventos que se
25 sucedem após o nascimento, momento este denominado de transição feto-neonatal
26 (LÚCIO; SILVA; VANNUCCHI, 2019).

27 Durante a gestação, a placenta é responsável pelo transporte e
28 metabolização de todos os nutrientes, gases e líquidos de acordo com a demanda
29 de cada etapa do crescimento. Em condições adversas, pode ocorrer falha na troca
30 materno-fetal, denominado de insuficiência placentária, e prejudicar o
31 desenvolvimento fetal (BROLIO et al., 2010). No parto, a função dos anexos fetais se
32 encerra, ocorre a ruptura das membranas e descolamento placentário do
33 endométrio, desencadeado por diversos mecanismos hormonais fisiológicos. Este

34 momento é crucial, pois o tempo de duração, qualidade e tipo de parto implicará
35 diretamente na transição feto-neonatal (VANNUCCHI et al., 2012).

36 A descrição das características morfológicas e histológicas da
37 placenta de cães nascidos por partos normais e cesáreas eletivas foi realizada por
38 Sarli e colaboradores (2021) e Tesi e colaboradores (2021), com o intuito de
39 destacar as anormalidades mais comuns encontradas em partos não complicados,
40 foi observado que a presença de focos extensos de necrose estavam relacionados
41 ao mau prognóstico da saúde neonatal.

42 A composição bioquímica do líquido amniótico (LA) e alantoideano
43 também foi descrita sob as mesmas condições. Diferenças entre a composição de
44 cada líquido e na concentração de glicose, lactato e creatinina foram encontradas
45 entre neonatos saudáveis e doentes até os sete dias de vida (BOLIS et al., 2017,
46 2018; FUSI et al., 2022; GROPPETTI et al., 2015; VERONESI et al., 2018).

47 Estes ensaios se demonstram promissores para a clínica da
48 neonatologia canina e predição de riscos aos neonatos. A escolha da placenta e do
49 LA, em especial, como biomarcadores é baseada na complexidade de sua estrutura
50 e na variação da composição ao longo da gestação (BOLIS et al., 2018; FUSI et al.,
51 2021; VERONESI et al., 2020). Estudo mais recente de Riva e colaboradores (2023)
52 demonstrou a presença de marcadores no LA para determinação da maturidade
53 neonatal em cesáreas eletivas e obtiveram resultados positivos quanto a
54 concentração de lecitina, esfingomiélin, proteína A surfactante, cortisol e
55 pentraxina-3.

56 Dessa forma, existe muito a ser explorado a respeito dos
57 componentes envolvidos no desenvolvimento fetal e na saúde de neonatos caninos,
58 além de descrever as características destas estruturas em diferentes condições de
59 parto. Frente a isso, o objetivo deste estudo foi investigar as características
60 bioquímicas do líquido amniótico e correlacionar com a histologia placentária em
61 cesáreas emergenciais e eletivas em cadelas, visando identificar potenciais
62 marcadores precoces de viabilidade neonatal para aprimorar o manejo e minimizar a
63 mortalidade neonatal.

64 2 REFERENCIAL TEÓRICO

65 2.1 DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E PLACENTAÇÃO NA ESPÉCIE CANINA

66 O cão (*Canis familiaris*, Linnaeus 1758) é um mamífero carnívoro da
67 família dos canídeos, conhecido por ser o animal mais antigo domesticado pelo ser
68 humano (DINETS, 2015). A fêmea canina é monoéstrica, preferencialmente não-
69 sazonal, com ciclo estral longo devido ao tempo prolongado de anestro obrigatório
70 em comparação às outras espécies. O período fértil das cadelas se inicia após o
71 pico do hormônio luteinizante (LH) e liberação do oócito imaturo. Em geral, em 24 a
72 48 horas, ocorre a maturação oocitária, tornando-o apto para que ocorra a
73 fecundação. A gestação se desenvolverá por um período de 65 ± 1 dias, após o pico
74 de LH, durante a fase de diestro (CONCANNON, 2011).

75 No momento de receptividade sexual, a cadela permitirá a cópula e,
76 neste momento, inicia-se o processo de fecundação do oócito pelo espermatozoide
77 (CONCANNON, 2011). Ainda na porção distal da tuba uterina, o zigoto passa por
78 sucessivas divisões mitóticas repetitivas até o estágio de mórula. Posteriormente, as
79 células começam a se diferenciar e, agora como blastocisto, adentram nos cornos
80 uterinos, realizando a migração para distribuição equilibrada dos embriões pelos
81 cornos uterinos (PRETZER, 2008).

82 No período inicial, o embrião consiste em uma esfera composta pelo
83 trofoectoderma, a massa celular interna (MCI) e a cavidade blastocística, ainda
84 envolvidos pela zona pelúcida. A partir do 12º dia da gestação, ocorre a implantação
85 ao endométrio, promovendo a placentação e formação de novas membranas e
86 cavidades (VEJLSTED, 2012). O trofoectoderma recebe o nome de trofoblasto,
87 tecido capaz de proliferar e penetrar no endométrio para dar origem à placenta e ao
88 córion. Enquanto os demais anexos – âmnio, saco vitelino, alantoide e cordão
89 umbilical – são derivados da MCI (REYNAUD et al., 2006).

90 A implantação do embrião ao endométrio é concluída até os 18-20
91 dias de gestação (REYNAUD et al., 2006). Anterior a isso, o suporte nutricional para
92 o desenvolvimento embrionário é proveniente dos líquidos presentes no lúmen
93 uterino. Uma vez que a demanda energética e metabólica aumenta com a evolução
94 da gestação, a placenta é originada para dar o aporte necessário para o crescimento
95 fetal (BROLIO et al., 2010).

96 Neste momento, a placenta torna-se o centro da unidade biológica
97 materno-fetal, sendo um órgão de alta complexidade estrutural e funcional. O
98 processo de placentação está diretamente relacionado à formação das membranas
99 extraembrionárias, representadas pelo cório, alantoide, âmnio e saco vitelino. De
100 forma transitória, estas estruturas exercem diversas funções, incluindo a nutrição,
101 transporte de gases, proteção imunológica e física e remoção dos resíduos ao longo
102 da gestação (VEJLSTED, 2012).

103 Os animais vivíparos possuem variação entre o tipo de suas
104 placentas. Nas cadelas, é denominada placenta corioalantoide, devido aos tecidos
105 responsáveis pela sua formação, e zonaria anular, organizada como uma ampla
106 faixa ao redor do eixo longitudinal do embrião. Em sua morfologia geral, existem três
107 zonas distintas: a cinta placentária, os hematomas marginais e a membrana
108 corioalantoide (ARALLA et al., 2013; FURUKAWA; KURODA; SUGIYAMA, 2014;
109 MIGLINO et al., 2006), como representado na Figura 1.

110 Quanto ao número de camadas que separam a circulação materna
111 da fetal, é caracterizada como endoteliocorial, pois o epitélio endometrial é perdido e
112 o tecido conjuntivo é invadido durante a placentação, permitindo o contato entre o
113 trofoblasto e o endotélio vascular materno. Essa comunicação entre os vasos é
114 disposta em forma de lamelas, redes complexas de projeções, promovendo um
115 mecanismo de contracorrente entre o sangue materno e fetal (ARALLA et al., 2013;
116 FURUKAWA; KURODA; SUGIYAMA, 2014; MIGLINO et al., 2006).

117 Na periferia da cinta placentária, encontram-se os hematomas
118 marginais, também denominados de órgão hemófago, os quais são responsáveis por
119 armazenar o sangue extravasado dos capilares maternos e manter reservas de ferro
120 para o desenvolvimento fetal. Nas cadelas, possui coloração esverdeada devido ao
121 metabolismo da hemoglobina (ENDERS; CARTER, 2012).

122 2.1.1 Membrana Placentária

123 A troca de substâncias entre a mãe e o concepto é mediada pela
124 membrana placentária, com influência direta das camadas que a compõem, além do
125 gradiente de concentração das substâncias e da presença de mecanismos de
126 transporte ativo (BROLIO et al., 2010). O córion faz parte da contribuição fetal para
127 formação da placenta, seu epitélio constitui o trofoblasto, composto por células do

128 citotrofoblasto e sinciciotrofoblasto. A zona de transferência, ou labirinto placentário,
129 é formado por lamelas, nas quais o trofoblasto envolve os vasos maternos, sem
130 lesar o endotélio, formando densos aglomerados ao seu redor (KOWALEWSKI et al.,
131 2021).

132 A atividade placentária é correspondente à progressão do
133 desenvolvimento fetal. A partir dos 45 dias de gestação até o momento do parto,
134 ocorre o aumento da complexidade de organização das lamelas, bem como, da
135 densidade capilar devido ao aumento da demanda nutricional e expansão do feto
136 (KOWALEWSKI et al., 2021). Dessa forma, o transporte pela membrana terá
137 influência da fase da gestação, do metabolismo materno e fetal (BROLIO et al.,
138 2010)

139 A placenta promove a regulação de entrega das substâncias,
140 envolvendo mecanismos como difusão simples (oxigênio, gás carbônico e água),
141 difusão facilitada (glicose, aminoácidos), transporte ativo (bombas de sódio, potássio
142 e cálcio), pinocitose e fagocitose. As moléculas de maior tamanho, que não
143 atravessam a membrana, são metabolizadas pela placenta para tornar possível a
144 entrega ao feto (ARALLA et al., 2012). Apesar de ser uma membrana relativamente
145 permeável, nos carnívoros, a transferência de imunoglobulinas é ínfima ou quase
146 nula (DALL'ARA et al., 2015).

147 Os metabólitos e líquidos provenientes do sangue materno, que
148 atravessam a placenta, são entregues ao feto para suprir as necessidades basais
149 durante o desenvolvimento. Sabe-se que os demais envoltórios fetais também
150 possuem papel importante na transferência e reabsorção desses compostos. Em
151 síntese, o fluxo placentário determinará o volume do LA e a presença de
152 aquaporinas nas membranas extraembrionários irá controlar a composição dos
153 fluidos nas diferentes fases da gestação, mantendo a homeostase (ARALLA et al.,
154 2012).

155 2.1.2 Membranas extraembrionárias

156 Além da placenta, outras estruturas estão presentes para a
157 manutenção e progressão do crescimento fetal (Figura 1).

158 O âmnio é uma membrana delgada de origem ectodérmica,
159 avascular, está intimamente situada ao redor do embrião. No seu interior, está

160 armazenado o líquido amniótico, proveniente da atividade secretória própria do
161 âmnio, plasma materno, secreções oronasais e urina fetal (ARALLA et al., 2013;
162 MIGLINO et al., 2006). Possui coloração esbranquiçada, aspecto translúcido e
163 consistência viscosa. O volume do líquido amniótico pode variar entre 8 e 30ml
164 (TONIOLLO; VICENTE, 2003; UNDERWOOD; GILBERT; SHERMAN, 2005).

165 O alantoide é uma membrana altamente vascularizada que circunda
166 completamente o âmnio e é responsável pelo armazenamento das excretas e
167 manutenção da homeostase do ambiente fetal (MIGLINO et al., 2006). Possui
168 coloração amarelo-escuro a esverdeada, aspecto transparente e consistência
169 aquosa. Seu volume é alterado ao longo da gestação, pois aumenta conforme o
170 metabolismo fetal, podendo variar entre 10 e 50ml no momento do parto
171 (TONIOLLO; VICENTE, 2003).

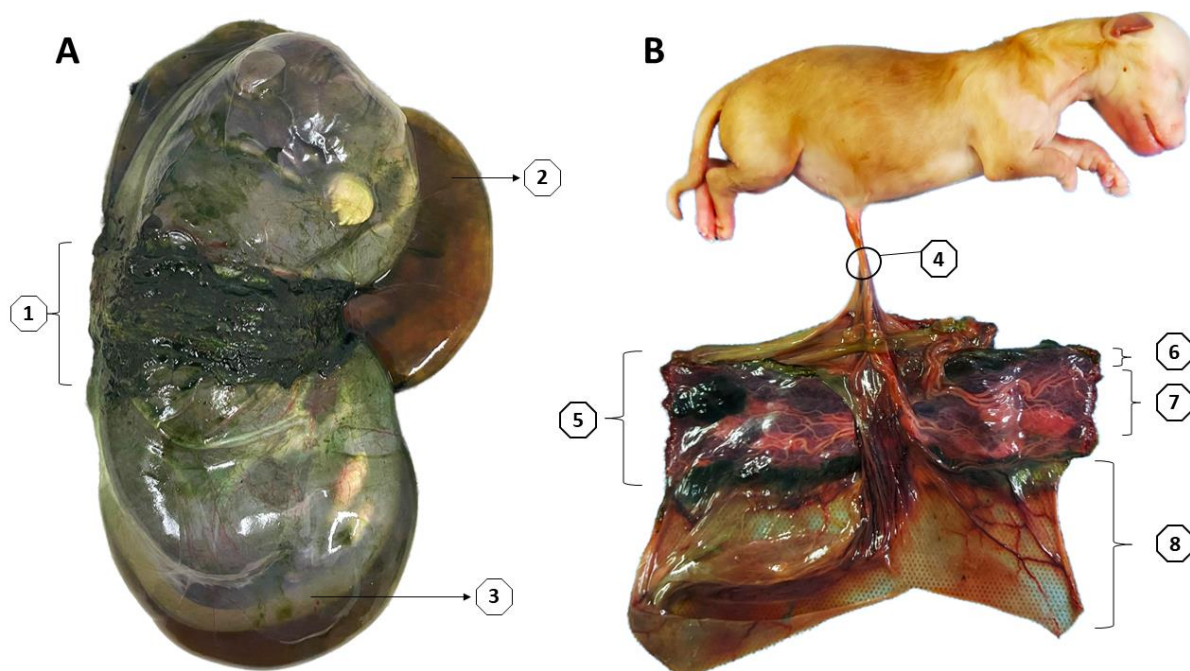
172 São diversas as funções dos líquidos fetais durante a gestação e no
173 momento do parto. Entre elas, está a formação de uma barreira física para proteção
174 do feto contra traumas, desidratação e variações de temperatura, ainda auxilia na
175 manutenção da pressão osmótica e armazena as substâncias expelidas pelo feto
176 (ARALLA et al., 2012; UNDERWOOD; GILBERT; SHERMAN, 2005). A presença dos
177 líquidos permite o crescimento e movimentação do feto sem que haja prejuízo para o
178 útero ou aderência das membranas à superfície tegumentar fetal. No momento do
179 parto, além de auxiliar na adoção da posição eutócica, possuem papel crucial para a
180 dilatação da cérvix, canal vaginal e vulva e aumentam a lubrificação da via de
181 passagem (CONCANNON, 1986; UNDERWOOD; GILBERT; SHERMAN, 2005).

182 O saco vitelino, por sua vez, situa-se ao redor do cordão umbilical e
183 é formado por duas camadas de células epiteliais e uma de células mesenquimais
184 com grande quantidade de vacúolos, mitocôndrias bem desenvolvidas e um extenso
185 complexo de Golgi, além de ser altamente vascularizado (LEE et al., 1983; MIGLINO
186 et al., 2006). No início da gestação, possui papel temporário na formação
187 placentária, caracterizando uma placenta coriovitelina até o desenvolvimento e fusão
188 do alantoide ao córion (VEJLSTED, 2012). Uma característica importante desta
189 estrutura nos carnívoros é a sua persistência até o fim da gestação,
190 desempenhando sua principal função de síntese e transporte das proteínas
191 necessárias para o desenvolvimento embrionário. Também está envolvido na
192 hematopoiese e transferências de substâncias entre a mãe e o feto (CARTER;
193 ENDERS, 2016; LEE et al., 1983).

194 Diante das características morfológicas e funcionais das diversas
195 estruturas que compõem o núcleo de desenvolvimento fetal intrauterino, é possível
196 afirmar a importância do bom funcionamento e sincronia entre os envolvidos para a
197 progressão da gestação, com o objetivo de formar filhotes íntegros e maduros.

198 Figura 1. Representação dos anexos fetais e sua disposição ao redor do feto da
199 cadela.

200



201 Legenda: (A) Feto a termo no interior das membranas extraembrionárias envolto
202 pela cinta placentária de característica zonária anular. (B) Exposição da face fetal da
203 placenta com destaque para o cordão umbilical com ramificação dos vasos para o
204 interior do labirinto placentário. 1: Face materna da placenta zonária anular
205 impregnada pela uteroverdina; 2: Membrana corioalantoide preenchida por líquido
206 amarronzado e translúcido (líquido alantoideano); 3: Membrana amniótica,
207 internamente mais próxima do feto, preenchida por líquido esbranquiçado e
208 ligeiramente turvo (líquido amniótico); 4: Cordão umbilical formando a conexão do
209 feto à placenta; 5: Placenta em corte transversal com destaque para face fetal; 6:
210 Hematoma marginal; 7: Labirinto placentário; 8: Membranas extraembrionárias –
211 colabamento do corioalantoide ao âmnio.

212 Fonte: Acervo pessoal, 2022.

213 2.2 NEONATOLOGIA DE PEQUENOS ANIMAIS

214 Na vida intrauterina, a saúde do neonato está diretamente associada
215 à saúde materna. Por isso, o cuidado pré-natal é o passo inicial para garantir que
216 haja uma boa gestação e desenvolvimento ideal dos filhotes. Deve haver a escolha
217 correta dos reprodutores, controle parasitário e vacinal, boa nutrição, controle do
218 ambiente e acompanhamento gestacional adequado para que seja garantido o bom
219 estado geral dos filhotes ao nascimento (JOHNSON, 2008; JOHNSTON et al., 2001).

220 Contudo, sabe-se que nem todas as cadelas que se tornam
221 gestantes possuem acesso a estes cuidados e, mesmo que haja o
222 acompanhamento adequado, ainda existem outros fatores que podem prejudicar a
223 viabilidade ao nascimento. Incluso nesta discussão, pode-se listar algumas
224 condições como o tipo de parto (SILVA et al., 2009), tamanho da ninhada (BORGE
225 et al., 2011), defeitos congênitos, uso de medicamentos durante a gestação,
226 doenças infectocontagiosas e doenças crônicas (UCHAŃSKA et al., 2022). Ou seja,
227 todos os fatores que envolvem o desenvolvimento gestacional na cadela são
228 refletidos na saúde do feto, devido a estreita relação entre ambos os organismos.

229 Ao final de todos os processos de desenvolvimento embrionário e
230 fetal que ocorrem durante a gestação, inicia-se o parto. Nesse momento, o feto é
231 liberado dos anexos que promoveram todo o suporte na vida intrauterina e
232 atravessam etapas complexas de amadurecimento de todos os sistemas,
233 denominado de transição feto-neonatal (VANNUCCHI et al., 2012)

234 A adaptação ao meio externo deve ocorrer mais rapidamente no
235 sistema respiratório e cardiovascular, pois o suprimento de oxigênio placentário é
236 interrompido. A liberação de corticosteroides no momento do parto estimula a
237 produção de surfactantes e maturação dos pulmões, concomitantemente, o estímulo
238 provocado pela diminuição da concentração de oxigênio circulante promove o
239 fechamento do ducto arterioso e dilatação dos vasos pulmonares, encerrando a
240 circulação do cordão umbilical. Neste momento, o sistema cardiorrespiratório
241 neonatal passa a ser o responsável pela manutenção das funções vitais, sem auxílio
242 da placenta (RICKARD, 2011; VANNUCCHI et al., 2012).

243 Os demais sistemas também sofrem processos adaptativos que
244 requerem maior tempo de vida e são controlados por diversos mecanismos. Entre
245 eles, podemos destacar a termorregulação, sistema imunológico, sistema urogenital,

246 sistema digestório e hepático (RICKARD, 2011). O neonato que não é capaz de
247 realizar essas etapas da forma correta, no tempo ideal, se torna um paciente de
248 risco. Por isso, é necessário que haja conhecimento a respeito da fisiologia particular
249 deste grupo e das adversidades que possam ter ocorrido no período pré e pós-natal.
250 Dessa forma, é importante que essas alterações sejam detectadas precocemente a
251 fim de determinar o melhor prognóstico (VERONESI, 2016).

252 2.2.1 Influência do Tipo de Parto

253 O trabalho de parto é o evento final de todo o processo gestacional,
254 no qual há expulsão dos filhotes e o encerramento da função dos anexos fetais,
255 incluindo a placenta. O gatilho para o início da parição está associado ao completo
256 desenvolvimento fetal e a maturação do eixo hipófise-adrenal-fetal, promovendo o
257 aumento da secreção de cortisol pelo feto. Na placenta, a progesterona é convertida
258 em estrógeno e, conseqüentemente, há aumento na síntese e secreção de PGF₂α
259 no útero. Neste momento, ocorre a luteólise e, conseqüentemente, a redução da
260 concentração sérica de progesterona e um aumento nos níveis de estrógeno e
261 ocitocina resultando no descolamento placentário, na dilatação da cérvix e no
262 aumento da contratilidade uterina (CONCANNON, 2000; 1986).

263 Ao considerar que todos esses processos se sucederão de forma
264 sincronizada e sem intercorrências, o parto é chamado de eutocia. Após o
265 desencadeamento hormonal, ocorre a expulsão dos fetos e, logo em seguida, a
266 placenta e anexos, de forma intercalada. Entre uma etapa e outra, a depender do
267 porte, raça e tamanho da ninhada, o período pode variar até 2 horas. A eutocia tem,
268 em média, duração de seis a 48 horas em cadelas (CONCANNON, 2000; LUZ;
269 FREITAS; PEREIRA, 2005).

270 Na prática da obstetrícia, partos dificultosos ou improdutivos,
271 chamados de distocia, são emergências comuns e podem acontecer por inúmeros
272 fatores. Estes fatores são classificados em maternos e/ou fetais, dependendo da
273 origem da complicação. As distocias de origem materna têm como causa mais
274 comum a inércia uterina primária, seguido pela inércia uterina secundária,
275 predisposição racial e conformação da pelve, deformidades anatômicas, idade e
276 escore corporal, traumas e inflamações (vaginites, vulvovaginites, placentites). As
277 distocias de origem fetal podem ter como causa a estática fetal anômala,

278 desenvolvimento fetal anormal e/ou ausência do desencadeamento do parto
279 (síndrome do filhote único, deficiência na produção do hormônio adrenocorticotrófico
280 [ACTH] e cortisol) (LUZ; FREITAS; PEREIRA, 2005; RUNCAN; SILVA, 2018).

281 A duração do parto e o tempo até a intervenção médica implicam
282 diretamente nas taxas de mortalidade dos neonatos. Devido a isso, é de extrema
283 importância o diagnóstico correto e tratamento adequado, em tempo hábil, para que
284 os riscos sejam minimizados (CORNELIUS et al., 2019). Em razão do descolamento
285 placentário, a sustentação do organismo fetal pela circulação materna é encerrada.
286 A partir deste momento, o neonato deve completar a transição e adaptar seu
287 metabolismo de forma individual, principalmente, a função cardiorrespiratória. Na
288 ausência do parto, é desencadeado o quadro de hipóxia e, posteriormente, pode
289 ocorrer a morte fetal caso não haja intervenção, ou seja, a cesárea de emergência
290 (VANNUCCHI et al., 2012).

291 Atualmente, o acompanhamento gestacional e o planejamento do
292 parto foram adaptados para a medicina veterinária. Alguns fatores relacionados às
293 distocias, como a raça, conformação da pelve, idade e escore corporal, são levados
294 em consideração quando o diagnóstico da gestação é realizado. Sendo assim, é
295 possível prever o momento do parto e intervir de forma precoce naquelas cadelas
296 que apresentam predisposição. Este procedimento é nomeado de cesárea eletiva
297 (RUNCAN; SILVA, 2018).

298 Em relação à viabilidade neonatal, existem diferenças entre os
299 diferentes tipos de parto. Sabe-se que filhotes nascidos de eutocias tendem a
300 apresentar maior viabilidade e atividade ao nascimento quando comparados aos
301 nascidos por cesáreas (VERONESI, 2016). Esse fato está relacionado,
302 principalmente, à ausência da depressão causada pelos anestésicos durante as
303 cesáreas, sejam elas emergenciais ou eletivas. Contudo, as taxas de mortalidade
304 neonatal são maiores nos casos emergenciais, em sua maioria, causados pelo
305 tempo prolongado de hipóxia, desequilíbrio ácido-base, déficits no *clearance*
306 pulmonar e hipotermia (MILA et al., 2017).

307 2.2.2 Exames Preditivos da Viabilidade Neonatal

308 Na medicina humana, são empregados diversos exames pré-natais
309 e pós-natal imediato a fim de determinar a saúde do neonato e a presença de

310 anormalidades no período gestacional. Enquanto isso, a medicina veterinária ainda
 311 possui poucos métodos eficazes para definir a viabilidade fetal e neonatal. A
 312 ausência de informação para que haja atenção e cuidados especiais na presença
 313 destas alterações são parte do problema das altas taxas de mortalidade deste grupo
 314 (SOUZA et al., 2017).

315 Atualmente, o parâmetro mais fidedigno para determinar a
 316 viabilidade neonatal nos primeiros cinco minutos de vida é o escore Apgar adaptado
 317 (FUSI et al., 2020; MILA et al., 2017). Este exame consiste na avaliação e
 318 classificação dos parâmetros vitais imediatamente após o nascimento, são estes:
 319 coloração de mucosas, frequência cardíaca, frequência respiratória, irritabilidade
 320 reflexa e tônus muscular. De acordo com escore de cada neonato (Tabela 1),
 321 determina-se o grupo de risco ao qual ele pertence (10 – 7: estável, 7 – 4:
 322 moderado, 4 – 0: grave), e são procedidas as intervenções necessárias de
 323 reanimação (VERONESI, 2016).

324 Tabela 1. Escore Apgar para avaliação da viabilidade de neonatos caninos.

Parâmetro	Escore		
	0	1	2
Coloração de Mucosa	Cianótica	Pálida	Rósea
Frequência Cardíaca	< 180 bpm	180 -220 bpm	> 220 bpm
Irritabilidade Reflexa	Ausente	Algum movimento	Hiperativo
Tônus Muscular	Flacidez	Alguma flexão	Flexão
Esforço Respiratório	Ausente	Irregular (FR < 15 mpm)	Regular e Vocalização (FR > 15 mpm)

325 Legenda: FR = Frequência respiratória, bpm = batimentos por minutos, mpm =
 326 movimentos por minuto. Adaptado de Veronesi, 2016.

327 Ainda de forma precoce, é possível classificar o neonato de risco a
 328 partir do seu peso ao nascimento. Filhotes nascidos com baixo peso possuem taxas
 329 de mortalidade maiores quando comparados aos classificados como normais, dentro
 330 das características raciais. Sabe-se que ninhadas maiores possuem o maior risco de
 331 ocasionar o baixo peso ao nascimento, indicando que este é um fator que afeta o
 332 desenvolvimento intrauterino e a capacidade de adaptação à vida extrauterina
 333 (MUGNIER et al., 2020). Juntamente, pode-se destacar a importância da avaliação

334 hematológica, bioquímica e hemogasométrica com o intuito de caracterizar o status
335 metabólico do paciente, principalmente, os nascidos de distocias e/ou de fêmeas
336 definidas como grupo de risco: obesas, jovens, idosas, doentes crônicos (LÚCIO;
337 SILVA; VANNUCCHI, 2019; REYES-SOTELO et al., 2022).

338 Visando ampliar as opções de exames complementares, existem
339 estudos acerca da normalidade e alterações presentes nos anexos e líquidos fetais.
340 A associação das características morfológicas e da composição destas estruturas à
341 ocorrência de doenças e mortalidade dos recém-nascidos possui atenção até
342 mesmo em estudos mais antigos. Como, por exemplo, em humanos, nos quais era
343 observado que uma placenta pequena estava relacionada a ocorrência de
344 natimortalidade (MARTINS, 1986). Muito se questionou sobre a finalidade dos
345 anexos fetais e foram descobertas análises para monitoração da saúde fetal
346 intrauterina. A avaliação dos fluidos fetais e placentologia são parâmetros passíveis
347 de avaliação para determinar, por exemplo, o sexo fetal, determinar a maturidade
348 fetal, diagnosticar gestações de alto risco, presença de infecções, doenças
349 congênitas e anomalias cromossômicas (ALFIREVIC; NAVARATNAM;
350 MUJEZINOVIC, 2017; WEIDA et al., 2015).

351 Na medicina veterinária, muito se estuda sobre o desenvolvimento
352 gestacional, características placentárias e das demais membranas extraembrionárias
353 de acordo com a particularidade de cada espécie. Nos carnívoros, principalmente
354 cães e gatos, foram realizadas descobertas a respeito da membrana placentária
355 (BROLIO et al., 2010), morfologia dos anexos (MIGLINO et al., 2006) e composição
356 do LA e alantoideano (MILLER et al., 2020; VERONESI et al., 2018), porém, ainda
357 existe um universo de informações a serem descritas e aplicadas para diferentes
358 grupos em diferentes condições de nascimento.

359 Em associação aos testes mais utilizados na rotina, Antonczyk e
360 colaboradores (2021) encontraram correlação positiva entre o escore Apgar, valores
361 de pH e base em excesso, por meio da hemogasometria do sangue proveniente do
362 cordão umbilical. Outro recente estudo demonstrou que os caninos que
363 apresentavam baixo peso ao nascimento possuíam diminuição no tamanho e peso
364 de suas placentas quando comparados aos neonatos dentro do peso esperado
365 (TESI et al., 2020).

366 A escolha dos envoltórios e líquidos fetais como marcadores da
367 saúde fetal e neonatal se faz muito prática visto que são materiais destinados ao

368 descarte logo após o parto, portanto, torna a análise minimamente invasiva (MILLER
369 et al., 2020). Atualmente, estudos demonstram facilidade na colheita do LA por meio
370 de amniocentese e no momento da cesárea, sem que haja influência no processo de
371 reanimação neonatal, para realização de testes clínicos de rotina, como a análise
372 bioquímica (BIGLIARDI et al., 2022; BOLIS et al., 2018; FUSI et al., 2022;
373 GROPPETTI et al., 2015; TAL et al., 2022; VERONESI et al., 2018).

374 Outra vantagem é a recuperação e processamento da placenta,
375 também no momento do parto, uma vez que sua função foi encerrada. Como
376 demonstrado por Tesi e colaboradores (2020) ao correlacionar as características
377 morfométricas da placenta com o peso ao nascimento dos neonatos.

378 A descrição das características macroscópicas e microscópicas dos
379 anexos fetais, em diferentes estágios da gestação, se faz relevante para realização
380 de estudos de marcadores e moléculas importantes no período gestacional: a partir
381 da evolução da placentação em períodos gestacionais distintos (MIGLINO et al.,
382 2006) até a caracterização das diferenças morfológicas da placenta em partos
383 eutócicos e distócicos (COSTA et al., 2015), assim como no que tange aos achados
384 histológicos, e a correlação com a mortalidade neonatal nos primeiros sete dias de
385 vida (SARLI et al., 2021; TESI et al., 2021).

386 Determinar as características histopatológicas da placenta se faz
387 extremamente importante para produzir informações a respeito da funcionalidade e
388 capacidade de autorregulação deste órgão. A disposição das fibras de colágeno e a
389 arquitetura da matriz extracelular na placenta são parâmetros capazes de determinar
390 o arranjo estrutural e a presença, ou não, de fibrose (ORTEGA et al., 2018). A
391 coloração de Picrosirius-Hematoxilina é utilizada para destacar a presença de fibras
392 colágenas espessas e delgadas a partir da birrefringência dos feixes sob luz
393 polarizada (LATTOUF et al., 2014). Na prática, o método foi eficaz em determinar as
394 áreas de fibrose na placenta de éguas (SILVA et al., 2022) e descrever a disposição
395 das fibras colágenas em placentas que sofreram lesões por hipóxia em mulheres
396 com distúrbios circulatórios (ORTEGA et al., 2018) correlacionando com o baixo
397 peso dos recém-nascidos.

398 Quanto a avaliação dos líquidos fetais, os estudos têm permitido não
399 apenas gerar dados a respeito da composição normal do LA e alantoideano, mas
400 também acerca de sua aplicação como marcadores de maturidade fetal. Barreto e
401 colaboradores (2011 & 2012) relataram que é possível a utilização do teste de

402 Clements modificado e a densitometria óptica para determinação da maturidade
403 pulmonar por meio da detecção da presença de surfactante no LA, além da
404 identificação de proteínas de baixo peso molecular para determinação da
405 maturidade renal de neonatos caninos. Outra possibilidade, recentemente descrita, é
406 a mensuração dos marcadores de maturidade neonatal no LA - lecitina,
407 esfingomielinina, proteína A surfactante, cortisol e pentraxina-3 –, permitindo que a
408 determinação do neonato prematuro seja feita de forma precoce, minimizando as
409 taxas de mortalidade (RIVA et al., 2023).

410 A investigação da composição bioquímica do LA mostrou-se
411 promissora na detecção de neonatos de risco nascidos por cesáreas eletivas.
412 Evidenciando diferença, principalmente, nas concentrações de lactato, glicose e
413 cortisol (BOLIS et al., 2018; FUSI et al., 2022; GROPPETTI et al., 2015; VERONESI
414 et al., 2018). Contudo, não há descrição de estudos realizados com a avaliação do
415 LA de neonatos nascidos de cesáreas emergenciais.

416 Dessa forma, surge a possibilidade de novas pesquisas para ampliar
417 e correlacionar diferentes variáveis em situações de parto e viabilidade neonatal
418 distintas a fim de agregar dados à literatura que sejam passíveis de aplicação para
419 minimizar a ocorrência de mortalidade dos recém-nascidos.

420 **3 REFERÊNCIAS**

- 421 ALFIREVIC, Z.; NAVARATNAM, K.; MUJEZINOVIC, F. Amniocentesis and chorionic
422 villus sampling for prenatal diagnosis. **The Cochrane Database of Systematic**
423 **Reviews**, v. 2017, n. 9, 4 set. 2017.
- 424 ANTOŃCZYK, A.; OCHOTA, M.; NIŻAŃSKI, W. Umbilical cord blood gas parameters
425 and apgar scoring in assessment of new-born dogs delivered by cesarean section.
426 **Animals**, v. 11, n. 3, p. 1–13, 1 mar. 2021.
- 427 ARALLA, M. et al. Expression of aquaporin water channels in canine fetal adnexa in
428 respect to the regulation of amniotic fluid production and absorption. **Placenta**, v. 33,
429 n. 6, p. 502–510, jun. 2012.
- 430 ARALLA, M. et al. Morphological evaluation of the placenta and fetal membranes
431 during canine pregnancy from early implantation to term. **Research in Veterinary**
432 **Science**, v. 95, n. 1, p. 15–22, ago. 2013.
- 433 BARRETO, C. S. et al. Uso do Teste de Clements Modificado e Densidade Óptica do
434 Líquido Amniótico e Alantoideano para Avaliação da Maturidade Pulmonar em Cães.
435 **Veterinária e Zootecnia**, v. 18, n. 1, p. 63–69, 2011.
- 436 BARRETO, C. S. et al. Concentração Proteica nos Fluidos Fetais como Método
437 Indicador da Maturidade Renal de Fetos Caninos. **Veterinária e Zootecnia**, v. 19, n.
438 1, p. 337–345, 2012.
- 439 BIGLIARDI, E. et al. Evaluation of Biochemical Composition of Amniotic and Allantoic
440 Fluids at Different Stages of Pregnancy in Queens. **Animals**, v. 12, n. 1414, 2022.
- 441 BOLIS, B. et al. Cortisol fetal fluid concentrations in term pregnancy of small-sized
442 purebred dogs and its preliminary relation to first 24 hours survival of newborns.
443 **Theriogenology**, v. 88, p. 264–269, 15 jan. 2017.
- 444 BOLIS, B. et al. Association of amniotic uric acid, glucose, lactate and creatinine
445 concentrations and lactate/creatinine ratio with newborn survival in small-sized dogs -
446 Preliminary results. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 66, n. 1, p. 125–136, 1 mar.
447 2018.
- 448 BORGE, K. S. et al. Litter size at birth in purebred dogs-A retrospective study of 224
449 breeds. **Theriogenology**, v. 75, n. 5, p. 911–919, 15 mar. 2011.
- 450 BROLIO, M. P. et al. A barreira placentária e sua função de transferência nutricional.
451 **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 4, p. 222–232, 2010.
- 452 CANELLO, F. G. et al. Estudo da Maturidade Fetal Canina em Fase Final de
453 Gestação: Aplicabilidade Diagnóstica. **Veterinária e Zootecnia**, v. 22, n. 4, p. 513–
454 521, dez. 2015.
- 455 CARTER, A. M.; ENDERS, A. C. Placentation in mammals: Definitive placenta, yolk
456 sac, and paraplacenta. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 278–287, 1 jul. 2016.

- 457 CONCANNON, P. **Canine Pregnancy**: Predicting Parturition and Timing Events of
458 Gestation | IVIS. 2000. Disponível em: <[https://www.ivis.org/library/recent-advances-
459 small-animal-reproduction/canine-pregnancy-predicting-parturition-and](https://www.ivis.org/library/recent-advances-small-animal-reproduction/canine-pregnancy-predicting-parturition-and)>. Acesso em:
460 28 nov. 2022.
- 461 CONCANNON, P. W. Canine pregnancy and parturition. *The Veterinary clinics of
462 North America. **Small animal practice***, v. 16, n. 3, p. 453–475, 1986.
- 463 CONCANNON, P. W. Reproductive cycles of the domestic bitch. **Animal
464 Reproduction Science**, v. 124, n. 3–4, p. 200–210, abr. 2011.
- 465 CORNELIUS, A. J. et al. Identifying risk factors for canine dystocia and stillbirths.
466 **Theriogenology**, v. 128, p. 201–206, 1 abr. 2019.
- 467 COSTA, L. F. et al. Análise da expressão de receptores para progesterona e
468 estrógeno α em placentas caninas provenientes de eutocia e distocia. **Revista
469 Brasileira de Reprodução Animal**, v. 39, n. 4, p. 394–398, 2015.
- 470 DALL'ARA, P. et al. Immunoglobulins G and lysozyme concentrations in canine fetal
471 fluids at term of pregnancy. **Theriogenology**, v. 83, n. 4, p. 766–771, 1 mar. 2015.
- 472 DINETS V. The Canis tangle: a systematics overview and taxonomic
473 recommendations. **Vavilov Journal of Genetics and Breeding**, v. 19, n. 3, p. 286–
474 291, 2015.
- 475 ENDERS, A. C.; CARTER, A. M. The evolving placenta: Convergent evolution of
476 variations in the endotheliochorial relationship. **Placenta**, v. 33, n. 5, p. 319–326,
477 2012.
- 478 FURUKAWA, S.; KURODA, Y.; SUGIYAMA, A. A comparison of the histological
479 structure of the placenta in experimental animals. **Journal of Toxicologic
480 Pathology**, v. 27, n. 1, p. 11–18, 2014.
- 481 FUSI, J. et al. Apgar score or birthweight in Chihuahua dogs born by elective
482 Caesarean section: Which is the best predictor of the survival at 24 h after birth?
483 **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 62, n. 1, 23 jul. 2020.
- 484 FUSI, J. et al. Effect of Delivery by Emergency or Elective Cesarean Section on Nitric
485 Oxide Metabolites and Cortisol Amniotic Concentrations in at Term Normal Newborn
486 Dogs: Preliminary Results. **Animals 2021, Vol. 11, Page 713**, v. 11, n. 3, p. 713, 5
487 mar. 2021.
- 488 FUSI, J. et al. Clinical Trial on the Usefulness of On-Site Evaluation of Canine Fetal
489 Fluids by Reagent Test Strip in Puppies at Elective Caesarean Section. **Biology**, v.
490 11, n. 1, 1 jan. 2022.
- 491 GROPPETTI, D. et al. Prognostic potential of amniotic fluid analysis at birth on
492 canine neonatal outcomes. **Veterinary Journal**, v. 206, n. 3, p. 423–425, 1 dez.
493 2015.
- 494 JOHNSON, C. A. Pregnancy management in the bitch. **Theriogenology**, v. 70, n. 9,
495 p. 1412–1417, dez. 2008.

- 496 JOHNSTON, S. D.; KUSTRITZ, M. V. R.; OLSON, P. S. Canine Pregnancy. In:
497 **Canine and Feline Theriogenology**. Philadelphia: Saunders, 2001. p. 146–167.
- 498 KOWALEWSKI, M. P. et al. Canine Endotheliochorial Placenta: Morpho-Functional
499 Aspects. **Advances in Anatomy Embryology and Cell Biology**, v. 234, p. 155–
500 179, 2021.
- 501 LATTOUF, R. et al. Picrosirius Red Staining: A Useful Tool to Appraise Collagen
502 Networks in Normal and Pathological Tissues. **Journal of Histochemistry and**
503 **Cytochemistry**, v. 62, n. 10, p. 751–758, 11 out. 2014.
- 504 LEE, S. Y. et al. Ultrastructure of the Placenta and Fetal Membranes of the Dog: II.
505 The Yolk Sac. **The American Journal of Anatomy**, n. 166, p. 313-327. 1983.
- 506 LÚCIO, C. F.; GARCIA SILVA, L. C.; VANNUCCHI, C. I. Haematological and
507 biochemical analysis of healthy neonatal puppies during the immediate foetal-to-
508 neonatal transition. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 54, n. 10, p. 1419–1422,
509 1 out. 2019.
- 510 LUZ, M. R.; FREITAS, P. M. C.; PEREIRA, E. Z. Gestação e parto em cadelas:
511 fisiologia, diagnóstico de gestação e tratamento das distocias. **Revista Brasileira de**
512 **Reprodução Animal**, v. 29, n. 3, p. 142–150, jul. 2005.
- 513 MARTINS, J. A. P. **Placentologia**. 1. ed. São Paulo: ROCA, 1986. v. 1, p. 103-203.
- 514 MIGLINO, M. A. et al. The carnivore pregnancy: The development of the embryo and
515 fetal membranes. **Theriogenology**, v. 66, n. 6–7, p. 1699–1702, out. 2006.
- 516 MILA, H. et al. Monitoring of the newborn dog and prediction of neonatal mortality.
517 **Preventive Veterinary Medicine**, v. 143, p. 11–20, 1 ago. 2017.
- 518 MILLER, I. et al. Some more about dogs: Proteomics of neglected biological fluids.
519 **Journal of Proteomics**, n. 218, p. 103724, 30 abr. 2020.
- 520 MUGNIER, A. et al. Birth weight as a risk factor for neonatal mortality: Breed-specific
521 approach to identify at-risk puppies. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 171, 1 nov.
522 2019.
- 523 MUGNIER, A. et al. Low and very low birth weight in puppies: definitions, risk factors
524 and survival in a large-scale population. **BMC Veterinary Research**, v. 16, n. 1, p.
525 354, 24 set. 2020.
- 526 ORTEGA, M. A. et al. Remodelling of collagen fibres in the placentas of women with
527 venous insufficiency during pregnancy. **Histology and Histopathology**, v. 33, n. 6,
528 p. 567–576, 1 jun. 2018.
- 529 PEREIRA, K. H. N. P. et al. Neonatal sepsis in dogs: Incidence, clinical aspects and
530 mortality. **Theriogenology**, v. 177, p. 103–115, 1 jan. 2022.
- 531 PRETZER, S. D. Canine embryonic and fetal development: A review.
532 **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 300–303, ago. 2008.

- 533 REYES-SOTELO, B. et al. Early Blood Analysis and Gas Exchange Monitoring in the
534 Canine Neonate: Effect of Dams Size and Birth Order. **Animals**, v. 12, n. 12, p. 1508,
535 9 jun. 2022.
- 536 REYNAUD, K. et al. In vivo canine oocyte maturation, fertilization and early
537 embryogenesis: A review. **Theriogenology**, v. 66, n. 6–7, p. 1685–1693, out. 2006.
- 538 RICKARD, V. Do nascimento às primeiras 24 horas. In: PETERSON, M. E.;
539 KUTZLER, M. A. **Pediatria em Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
540 p. 11–19.
- 541 RIVA, F. et al. Canine amniotic fluid at birth: From a discarded sample to a potential
542 diagnostic of neonatal maturity. **Animal Reproduction Science**, v. 248, p. 107184, 1
543 jan. 2023.
- 544 RUNCAN, E. E.; COUTINHO DA SILVA, M. A. Whelping and Dystocia: Maximizing
545 Success of Medical Management. **Topics in Companion Animal Medicine**, n. 33, p.
546 12-16, 1 mar. 2018.
- 547 SARLI, G. et al. Canine placenta histological findings and microvascular density: The
548 histological basis of a negative neonatal outcome? **Animals**, v. 11, n. 5, 1 maio
549 2021.
- 550 SILVA, L. C. G. et al. Neonatal clinical evaluation, blood gas and radiographic
551 assessment after normal birth, vaginal dystocia or caesarean section in dogs.
552 **Reproduction in Domestic Animals**, n. 44, Suppl 2, p. 160-163, jul. 2009.
- 553 SILVA, A.C., et. al. Collagen and Microvascularization in Placentas From Young and
554 Older Mares. **Frontiers of Veterinary Science**, v.4, n8, p. 772658, jan, 2022.
- 555 SOUZA, T. et al. Mortalidade fetal e neonatal canina: etiologia e diagnóstico. **Revista**
556 **Brasileira de Reprodução Animal**, v. 40, n. 2, p. 639–649, abr. 2017.
- 557 TAL, S. et al. Analysis of biochemical parameters in canine fetal fluids during the
558 second half of pregnancy. **Theriogenology**, v. 189, p. 31–41, 1 set. 2022.
- 559 TESI, M. et al. Relationship between placental characteristics and puppies' birth
560 weight in toy and small sized dog breeds. **Theriogenology**, v. 141, p. 1–8, 1 jan.
561 2020.
- 562 TESI, M. et al. Gross and histological findings in the canine placenta and amnion at
563 term: What's normal, abnormal or pathological? **Reproduction in Domestic**
564 **Animals**, v. 56, n. 5, p. 691–702, 1 maio 2021.
- 565 TONIOLLO, G. H.; VICENTE, W. R. R. Capítulo III – Placenta e placentação, líquidos
566 fetais, cordão umbilical e fisiologia fetal. In: TONIOLLO, G. H.; VICENTE, W. R. R.
567 **Manual de Obstetrícia Veterinária**. São Paulo: Livraria Varela, 2003. p. 31–36.
- 568 UCHAŃSKA, O. et al. Dead or Alive? A Review of Perinatal Factors That Determine
569 Canine Neonatal Viability. **Animals**, n. 12, v. 11, 1 jun. 2022.
- 570 UNDERWOOD, M. A.; GILBERT, W. M.; SHERMAN, M. P. Amniotic fluid: Not just

- 571 fetal urine anymore. **Journal of Perinatology**, v. 25, n. 5, p. 341–348, maio 2005.
- 572 VANNUCCHI, C. I. et al. Prenatal and Neonatal Adaptations with a Focus on the
573 Respiratory System. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n. SUPPL. 6, p.
574 177–181, dez. 2012.
- 575 VEJLSTED, M. Placentação comparada. In: HYTTEL, P.; SINOWATZ, F.;
576 VEJLSTED, M. **Embriologia veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012, p. 162-185.
- 577 VERONESI, M. C. Assessment of canine neonatal viability—the Apgar score.
578 **Reproduction in Domestic Animals**, v. 51, p. 46–50, 1 set. 2016.
- 579 VERONESI, M. C. et al. Biochemical composition of fetal fluids in at term, normal
580 developed, healthy, viable dogs and preliminary data from pathologic littermates.
581 **Theriogenology**, v. 108, p. 277–283, 1 mar. 2018.
- 582 VERONESI, M. C. et al. Effect of breed body-size on leptin amniotic fluid
583 concentrations at term pregnancy in dogs. **Theriogenology**, v. 149, p. 1–5, 1 jun.
584 2020.
- 585 WEIDA, J. N. et al. Comprehensive Review of the Stillborn Placenta. **Journal of**
586 **Midwifery and Women’s Health**, n. 60, v. 4, p. 380-389, 1 jul. 2015.

587 4 HIPÓTESES

588 A composição bioquímica do líquido amniótico, as lesões
589 placentárias e a viabilidade após 24 horas de nascimento diferem entre neonatos
590 caninos oriundos de cesáreas eletivas e emergenciais.

591 A análise bioquímica do líquido amniótico e histológica da placenta
592 em cesáreas caninas são parâmetros para determinação da viabilidade neonatal.

593 5 OBJETIVOS

594 5.1 OBJETIVO GERAL

595 Avaliar as características bioquímicas do líquido amniótico e
596 histopatológicas da placenta de cães para comparação dos resultados de neonatos
597 nascidos por cesáreas eletivas e emergenciais, a fim de associar os achados à
598 viabilidade neonatal nas primeiras 24 horas de vida.

599 5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 600 1. Classificar o escore Apgar dos neonatos caninos nascidos de cesáreas
601 eletivas e emergenciais, vivos ou mortos em até 24 horas;
- 602 2. Caracterizar os parâmetros bioquímicos do líquido amniótico de neonatos
603 caninos provenientes de cesáreas eletivas e emergenciais, vivos ou mortos
604 em até 24 horas;
- 605 3. Caracterizar os aspectos histopatológicos da placenta de neonatos caninos
606 provenientes de cesáreas eletivas e emergenciais, vivos ou mortos em até 24
607 horas;
- 608 4. Correlacionar os resultados das análises do líquido amniótico, achados
609 histopatológicos da placenta e escore Apgar de neonatos provenientes de
610 cesáreas eletivas e emergenciais, vivos ou mortos em até 24 horas;
- 611 5. Descrever a característica da disposição das fibras de colágeno identificadas
612 pelo método de coloração Picrosirius-Hematoxilina nas placentas
613 provenientes de cesáreas eletivas e emergenciais, vivos ou mortos em até 24
614 horas.

615 **ARTIGO – EMERGENCY CESAREAN SECTION IN DOGS: USEFULNESS OF**
616 **AMNIOTIC FLUID BIOCHEMICAL PARAMETERS AND PLACENTAL**
617 **MORPHOLOGY AS INDICATORS OF NEONATAL**

618 Revista para submissão: Theriogenology - An International Journal of Animal
619 Reproduction.

620 Fator de impacto: 2021: 2.923 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2022.

621 Classificação CAPES (2017-2020): A1

622 Obs: Ainda é necessária tradução.

623 **Emergency Cesarean Section in Dogs: Usefulness Of Amniotic Fluid**

624 **Biochemical Parameters And Placental Morphology As Indicators Of Neonatal**

625

RESUMO

626 Nos últimos anos, atenção especial vem sendo dada a análise dos fluidos
627 embrionários e para histopatologia da placenta na busca de possíveis parâmetros
628 que possam ser utilizados como indicadores da qualidade reprodutiva materna,
629 viabilidade embrionária, saúde fetal e neonatal. A saúde do recém-nascido é reflexo
630 do bom funcionamento dos anexos extraembrionários e das relações com os tecidos
631 maternos, portanto, avaliar esses componentes se mostra promissor para detecção
632 precoce de neonatos de risco. Este estudo teve como objetivo detectar as
633 características bioquímicas do líquido amniótico e histopatológicas da placenta para
634 comparação entre neonatos caninos nascidos por dois tipos de cesárea, a fim de
635 associar os achados à viabilidade neonatal nas primeiras 24 horas de vida. Ao todo,
636 38 neonatos, provenientes de cesáreas eletivas (CEL, n=19) e emergenciais (CEM,
637 n=19) foram selecionados. O escore Apgar foi utilizado como protocolo padrão de
638 determinação da viabilidade no pós-parto imediato. O líquido amniótico foi colhido
639 para análise da concentração de seus componentes bioquímicos (alanina
640 aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), creatinina, ureia, proteínas totais
641 (PT), albumina, bilirrubinas totais e direta, lactato, glicose, potássio, cloretos, cálcio e
642 sódio), enquanto a placenta foi submetida a processamento histopatológico para
643 descrição das lesões no labirinto placentário (necrose, hemorragia, infiltrado
644 inflamatório e calcificação) e identificação da disposição de fibras de colágeno,
645 utilizando as técnicas de hematoxilina-eosina e Picrosirius. Observou-se aumento da
646 atividade de FA ($p=0,035$), concentração de lactato ($p<0,001$), potássio ($p=0,031$) e
647 bilirrubina direta ($p=0,039$) e diminuição dos cloretos ($p<0,001$) no LA de neonatos
648 do grupo CEM. A comparação entre os grupos não evidenciou diferenças entre a
649 presença e extensão das lesões na placenta, contudo, de forma subjetiva, foi
650 observada diferença na disposição das fibras de colágeno no arcabouço das
651 placentas. As lesões mais frequentes foram necrose e hemorragia. A comparação
652 entre os achados do líquido amniótico e histopatológico evidenciou correlação
653 negativa ($r=-0.609$, $p=0,003$) entre a concentração de glicose e a presença de
654 necrose no labirinto placentário. A partir dos resultados foi possível observar que a
655 composição do líquido amniótico sofre alterações por influência do tipo de cesárea,

656 possivelmente, causadas pela hipóxia prolongada nos casos de distocia refletindo o
657 *status* metabólico do neonato. Nas condições do experimento, não foram
658 encontradas correlações entre as características histopatológicas da placenta com a
659 viabilidade dos neonatos, mas nota-se variações na disposição das fibras colágenas
660 componentes da matriz extracelular. Dessa forma, destaca-se a atividade de FA e
661 as concentração de lactato, potássio e cloretos no LA como marcadores da saúde
662 neonatal em cesáreas emergenciais e, em contrapartida, a histopatologia placentária
663 mostrou-se um importante exame indicativo da saúde reprodutiva materna,
664 assumindo papel na redução do impacto da mortalidade neonatal em cães.

665 **Palavras-chave:** Anexos fetais, bioquímica, colágeno, hipóxia, histopatologia.

666 1. INTRODUÇÃO

667 A neonatologia de pequenos animais evoluiu na última década
668 visando minimizar as taxas de mortalidade dos recém-nascidos. Identificar a possível
669 razão das perdas na ninhada é essencial para implementação de métodos
670 preventivos. As principais causas estão relacionadas à gestação, com destaque a
671 insuficiência placentária e doenças infectocontagiosas, ao processo do parto (parto
672 prolongado, distocias) e ao período pós-nascimento (filhotes órfãos, traumas, más
673 formações) [1].

674 Durante a vida intrauterina, o concepto possui suporte para seu
675 desenvolvimento provindo da placenta, membranas extraembrionárias e líquidos
676 regulados pelo organismo materno. Ao decorrer da gestação, as substâncias
677 carregadas pela circulação materna até a placenta atingem os compartimentos fetais,
678 são metabolizados e, posteriormente, compõem os líquidos fetais [2].

679 O líquido amniótico (LA) é composto por secreções produzidas pelo
680 feto oriundas do sistema digestório, respiratório e urinário, transporte
681 transmembrana de água e eletrólitos, além de células epiteliais provenientes do feto,
682 suas características bioquímicas se assemelham ao plasma fetal [3]. Enquanto o
683 líquido alantoideano sofre influência do plasma materno e, supostamente, também é
684 formado pela urina fetal e metabólitos transportados do LA pelos canais das
685 membranas alantoide e amniótica [3,4]. Dessa forma, a composição e integridade
686 dos anexos atuam como sinalizadores de alterações, refletindo o *status* do
687 metabolismo placentário e fetal [5].

688 No momento do parto, a circulação placentária se encerra e ocorre a
689 ruptura das membranas, desencadeada por diversos mecanismos hormonais
690 fisiológicos. Este momento é crucial, pois o tempo de duração, qualidade e tipo de
691 parto implicará diretamente na transição feto-neonatal [6]. Nas distocias, o período
692 de hipóxia é prolongado, acarretando desequilíbrio ácido-base, déficits no *clearance*
693 pulmonar e hipotermia. Portanto, é de extrema importância o diagnóstico correto do
694 paciente de risco e tratamento adequado, em tempo hábil, para que os danos sejam
695 minimizados [7].

696 Sarli e colaboradores [8] e Tesi e colaboradores [9] utilizam a
697 análise das características macroscópicas e histopatológicas da placenta de
698 neonatos a termo como uma via para detecção de lesões que possam atuar como

699 marcadores da saúde neonatal. Ademais, a composição bioquímica do LA também
700 já se mostrou promissora na detecção de neonatos de risco nascidos por cesáreas
701 eletivas, evidenciando diferença, principalmente, nas concentrações de lactato,
702 glicose e cortisol [10–12]. Contudo, não há descrição de estudos com a avaliação do
703 LA e histopatologia da placenta de neonatos nascidos de cesáreas emergenciais.

704 O objetivo deste estudo foi investigar a composição bioquímica do
705 líquido amniótico e correlacionar com a histopatologia placentária em cesáreas
706 emergenciais e eletivas de cadelas, visando identificar potenciais marcadores
707 precoces de viabilidade neonatal para aprimorar o manejo e minimizar o impacto da
708 mortalidade neonatal.

709 2. MATERIAL E MÉTODOS

710 O estudo foi desenvolvido conforme as normas do CONCEA e
711 aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de
712 Londrina (Parecer nº 013.2022).

713 2.1. Seleção dos animais e procedimento cirúrgico

714 No estudo foram incluídas 15 cadelas, em situação de parto
715 imediato, de diferentes raças (um Biewer, um Bulldog francês, três Chihuahua, um
716 Lhasa apso, dois Pinscher, um Pitbull, quatro sem raça definida e dois Spitz
717 alemão), idade (1-8 anos) e peso (1,2 – 24,2 kg) variados. Os animais foram
718 divididos em grupos de acordo com o tipo de cesárea: eletivas (CEL) e emergenciais
719 (CEM). O momento das cesáreas eletivas (n=6) foi baseado no período gestacional,
720 em cadelas inseminadas artificialmente, determinado por meio da ultrassonografia
721 gestacional, levando em consideração a biometria fetal [13]. As cesáreas
722 emergenciais (n=9) foram realizadas em cadelas atendidas no pronto-socorro
723 diagnosticadas em distocia devido a presença de secreção vaginal esverdeada,
724 contrações improdutivas acima de uma hora, intervalo entre filhotes maior que duas
725 horas, presença de sofrimento fetal detectado por meio da ultrassonografia e
726 obstrução do canal vaginal [13,14]. Não foram incluídas no estudo as cadelas que
727 apresentavam condição de morte fetal, observado pela ausência de batimentos
728 cardíacos durante a ultrassonografia.

729 Os protocolos anestésicos foram padronizados para as cesáreas dos
730 dois grupos. Anteriormente, foi realizada antibioticoterapia profilática (cefazolina,
731 30mg/kg, IV) e oxigenioterapia. Feita a indução por infusão de propofol (5mg/kg, IV),
732 seguida pela intubação com sonda traqueal adequada, para manutenção utilizando
733 isoflurano. A histerotomia foi realizada por celiotomia pré-retro-umbilical para
734 exposição completa do útero e remoção dos neonatos. Em seguida, as cadelas
735 receberam analgesia (metadona, 0,25mg/kg, IV) para finalização do procedimento
736 cirúrgico.

737 2.2. Reanimação neonatal, colheita do líquido amniótico e das placentas

738 A colheita do líquido amniótico foi realizada pelo cirurgião, no
739 momento da exposição de cada feto no interior do útero, anterior ao descolamento

740 da placenta, a fim de evitar qualquer complicação. As amostras foram colhidas
741 separadamente com seringa de 5mL e agulha 25x7mm. O volume médio foi de 3mL
742 (0,5-5mL) de LA por animal. Imediatamente após a colheita, foram enviadas para
743 análise. Optou-se por descartar as amostras com volume abaixo do preconizado
744 para análise laboratorial e aquelas com presença de mecônio, visto que a
745 contaminação influenciaria os resultados.

746 Posteriormente, foi realizada remoção das membranas fetais e
747 prosseguiu-se com a reanimação neonatal, como descrito por Antończyk e
748 colaboradores [15]. A viabilidade neonatal foi determinada de acordo com o escore
749 Apgar [16] imediatamente (T0) e cinco minutos (T5) após o nascimento.
750 Determinados os níveis de estresse de acordo com a classificação: estável (10-7),
751 moderado (6-4) e grave (3-0). Os procedimentos de reanimação, oxigenação e
752 intervenção medicamentosa foram realizados conforme a necessidade individual de
753 cada recém-nascido. Todos os neonatos foram submetidos à exame físico geral para
754 pesagem, em balança digital (SF-400, GP INOX®), e identificação de má
755 formações. Para colheita das placentas, o cordão umbilical foi clampeado após três
756 minutos da saída dos filhotes do útero. A sobrevivência dos neonatos foi monitorada
757 até às 24 horas pós-parto.

758 2.3. Análise bioquímica do Líquido amniótico

759 As amostras de, no mínimo, 0,5 mL foram enviadas para análise
760 imediata, após centrifugação a 1750xg durante 10 min. Em aparelho de bioquímica
761 automatizado Siemens Healthineers DIMENSION EXL 200 (Siemens AG, Munique,
762 Alemanha) foram testados os seguintes parâmetros: alanina aminotransferase (ALT),
763 fosfatase alcalina (FA), creatinina, ureia, proteínas totais, albumina, bilirrubinas,
764 lactato e glicose. Para detecção da concentração de cloretos, sódio e potássio foi
765 utilizado o sistema de gasometria RAPIDPoint® 500 (Siemens AG, Munique,
766 Alemanha).

767 2.4. Avaliação histopatológica da placenta

768 As placentas foram identificadas, realizada incisão transversal em
769 região oposta à inserção do cordão umbilical, retiradas as membranas fetais e
770 esticadas sobre superfície limpa. Fragmentos de 1 cm da região oposta ao cordão

771 umbilical foram fixadas em solução tamponada de formol 10% durante 48 horas e,
772 na sequência, transferidas para solução de álcool 70%, onde permaneceram até o
773 momento do processamento histológico. Para tanto, as amostras foram processadas
774 e desidratadas em concentrações crescentes de etanol (70 a 100%), seguido de
775 diafanização em xilol por duas horas. Em seguida, as amostras foram embebidas em
776 parafina histológica e mantidas *overnight* dentro da estufa a 38°C. Por fim, foram
777 confeccionados os blocos histológicos, os quais foram cortados em micrótomo
778 automático (RM2155; Leica, Berlim, Alemanha) para obtenção de cortes de 5 µm de
779 espessura. A técnica de coloração utilizada foi hematoxilina-eosina (HE). As
780 amostras foram analisadas por meio da microscopia de luz e fotografadas no
781 dispositivo EVOSTM FL Auto Imaging (ThermoFisher Scientific, EUA).

782 A avaliação histopatológica foi realizada somente no labirinto
783 placentário, sendo consideradas as seguintes alterações: necrose, calcificação,
784 infiltrado inflamatório e hemorragia. Os focos de necrose foram caracterizados
785 quando havia perda de detalhes do labirinto acompanhada de detritos celulares e/ou
786 infiltrado de células inflamatórias. A mineralização foi caracterizada pela presença de
787 estruturas granulares pontilhadas basofílicas ou espículas mineralizadas, segundo
788 Tesi e colaboradores [9]. Foi considerada a integridade do endotélio vascular
789 materno e fetal, arranjo e arquitetura dos cordões de células do trofoblasto,
790 congestão de vasos maternos e fetais, extravasamento de hemácias para o
791 interstício, necrose e perda das características celulares com substituição por tecido
792 conjuntivo e/ou calcificação e, por fim, a presença de células inflamatórias no interior
793 nos vasos ou intermeadas entre as lamelas.

794 As lesões foram classificadas por escore, adaptado da descrição de
795 literatura [9]: escore 0 = ausência, escore 1 = presença discreta em um a dois focos;
796 escore 2 = presença moderada multifocal e escore 3 = presença acentuada em
797 regiões difusas.

798 2.4.1. Coloração Picrosirius-Hematoxilina

799 Para descrição das redes de colágeno no labirinto placentário e
800 caracterização do padrão de distribuição das fibras ao redor das lesões, previamente
801 descritas na coloração HE, foi utilizada a coloração Picrosirius-Hematoxilina (Kit
802 Picrosirius-Hematoxilina, EP-11-20011, Erviagas, São Paulo, BR). Os cortes
803 histológicos foram desparafinizados em xilol, hidratados em gradiente alcoólico

804 decrescente e água destilada. Inicialmente, foi instilada a solução A (Picrosirius Red)
805 sobre o corte e mantido durante uma hora. Após, os cortes foram lavados em água
806 corrente durante dois minutos e corados com a solução B (Hematoxilina de Carazzi)
807 durante 20 minutos. Por fim, foram lavados em água corrente, desidratados em
808 gradiente alcoólico crescente e diafanizados em xilol para montagem com lamínula.

809 A análise descritiva da disposição e coloração das fibras de
810 colágeno foi realizada em microscopia de luz com filtro polarizado (0600R Fluor,
811 Opticam® Microscopy Technology, São Paulo, BR). As fotografias foram realizadas
812 no programa OPTHD (Software OPTHD, Opticam® Microscopy Technology, São
813 Paulo, BR), com padronização no ajuste de cor para todas as imagens.

814 Todas as análises foram realizadas pelo mesmo avaliador. Foi
815 analisado o predomínio de cores, organização e heterogeneidade das fibras em
816 diferentes regiões do labirinto, face materna e face fetal da placenta. Levou-se em
817 consideração a identificação das fibras de acordo com sua coloração sob a luz
818 polarizada: as fibras vermelhas e amareladas indicam a presença de colágeno do
819 tipo I e as fibras verdes indicam a presença de colágeno do tipo III [17].

820 2.5. Análise estatística

821 Todos os dados foram testados para distribuição normal pelo teste
822 de Shapiro-Wilk. Por não apresentarem distribuição normal, foi realizado teste de
823 Mann-Whitney para comparação do escore de lesão do labirinto placentário e da
824 composição bioquímica do líquido amniótico entre grupos (CEL x CEM) e vivos e
825 mortos. O teste de Spearman foi utilizado para determinar o coeficiente de
826 correlação entre: cada variável da composição bioquímica do líquido amniótico e
827 escore Apgar para cada grupo (CEL x CEM) e entre vivos e mortos; escore de lesão
828 no labirinto placentário e escore Apgar para cada grupo (CEL x CEM) e entre vivos e
829 mortos; cada variável da composição do líquido amniótico e o escore de lesão no
830 labirinto placentário para cada grupo (CEL x CEM) e entre vivos e mortos. Os dados
831 foram analisados no programa estatístico SigmaPlot® (Version 12.0; Systat Software
832 Inc, San Jose, CA, USA) considerando o nível de significância de 5%.

833 3. RESULTADOS

834 3.1. Achados clínicos e escore Apgar

835 Das 15 cadelas, seis foram submetidas à cesárea eletiva (CEL) e
 836 nove à cesárea emergencial (CEM). Foi avaliado um total de 38 neonatos, sendo 19
 837 do grupo CEL e 19 do grupo CEM. Ao nascimento, todos os neonatos estavam a
 838 termo, sem más-formações e com peso esperado para a raça, com exceção de um
 839 recém-nascido, contudo houve depressão no momento imediato de parto, em ambos
 840 os grupos (Tabela 1). A avaliação da viabilidade neonatal evidenciou maior
 841 proporção de escore Apgar com risco moderado no T0 e, após cinco minutos de
 842 reanimação e oxigenioterapia, observou-se melhora significativa dos parâmetros e
 843 evolução positiva do escore Apgar da maioria dos animais (CEL = 89,5%; CEM =
 844 73,7%).

845 Tabela 1. Classificação dos neonatos caninos provenientes das cesáreas eletivas e
 846 emergências, vivos e mortos, de acordo com o escore Apgar no momento imediato
 847 do nascimento (T0) e após cinco minutos (T5).

Escore Apgar	CEL		CEM		Vivos		Óbitos	
	T0	T5	T0	T5	T0	T5	T0	T5
10-7	36,8% (7/19)	89,5% (17/19)	36,8% (7/19)	73,7% (14/19)	43,8% (14/32)	93,8% (30/32)	0% (0/6)	16,7% (1/6)
6-4	42,1% (8/19)	10,5% (2/19)	21,1% (4/19)	21,1% (4/19)	37,5% (12/32)	6,2% (2/32)	0% (0/6)	66,7% (4/6)
3-0	21,1% (4/19)	0% (0/19)	42,1% (8/19)	5,3% (1/19)	18,8% (6/32)	0% (0/32)	100% (6/6)	16,7% (1/6)

848 Legenda: CEL = Cesáreas Eletivas; CEM = Cesáreas Emergenciais. Os dados foram
 849 expressos em porcentagem (%), seguido por n/n total.

850 Seis neonatos foram à óbito nas primeiras 24 horas de vida, todos
 851 apresentavam escore Apgar com classificação de risco grave (escore Apgar <3) no
 852 T0. Apenas um, pertencente ao grupo CEM, não respondeu à reanimação e foi a
 853 óbito após cinco minutos do nascimento. Do total de óbitos, um pertencia ao grupo
 854 CEL e cinco ao grupo CEM, sendo três da mesma ninhada e os demais de ninhadas
 855 distintas. Ficou evidenciado, por meio de exames laboratoriais, que a causa da
 856 mortalidade de três filhotes da mesma ninhada estava relacionada à infecção

857 materna por erliquiose e babesiose, enquanto os demais, possivelmente, foram
858 causados pela hipóxia provocada pelo tempo de distocia. O óbito referente ao grupo
859 CEL não foi vinculado a nenhuma causa materna ou de origem infecciosa, contudo,
860 o neonato apresentava baixo peso ao nascimento.

861 Em relação ao tempo de distocia, no grupo CEM, foi observado que
862 o período mais curto constava em 2 horas, enquanto o período mais longo de
863 trabalho de parto improdutivo durava 48 horas, segundo anamnese. Não houve óbito
864 de nenhuma das parturientes.

865 3.2. Análise do líquido amniótico

866 A análise do líquido amniótico foi performeda em 24 dos 38
867 neonatos avaliados. A discrepância na colheita das amostras se deve pela
868 dificuldade na técnica, volume de líquido muito baixo – principalmente, nas cesáreas
869 emergenciais de longo tempo de distocia, e contaminação de amostras com
870 mecônio.

871 Com relação à colheita do material, 14 amostras foram provenientes
872 do grupo CEL, enquanto dez pertenciam ao grupo CEM. Os achados laboratoriais
873 para ambos os grupos estão descritos na Tabela 2. Foi observado efeito do tipo de
874 cesárea para as análises de FA ($p=0,035$), bilirrubina direta ($p=0,039$), lactato
875 ($p<0,001$), cloretos ($p<0,001$) e potássio ($p=0,031$). Enquanto, na comparação entre
876 filhotes vivos e mortos em até 24 horas, observou-se diferença somente na
877 concentração de ALT ($p=0,037$).

878 No grupo CEM, notou-se maior amplitude (max-min) nos resultados
879 de concentração dos componentes bioquímicos do líquido amniótico quando
880 comparados ao grupo CEL. Não foi observada variação de amplitude na
881 comparação entre neonatos mortos e vivos. A concentração de albumina no LA em
882 100% das amostras analisadas estava abaixo do mínimo detectável pelo aparelho.

883 O teste de Spearman permitiu observar a existência de correlação
884 positiva moderada entre as concentrações de creatinina e potássio ($r=0,567$,
885 $p=0,003$), bilirrubinas totais ($r=0,551$; $p=0,006$), bilirrubina direta ($r=0,629$, $p=0,001$) e
886 atividade de FA ($r=0,482$, $p=0,013$). Além das concentrações de lactato e potássio
887 ($r=0,405$, $p=0,044$), atividade de FA ($r=0,532$, $p=0,005$) e ALT ($r=0,402$, $p=0,04$).
888 Nota-se correlação negativa moderada entre as concentrações de lactato de cloretos
889 ($r=-0,571$, $p=0,002$). Ademais, observou-se correlação negativa forte entre o escore

890 Apgar em T0 e a atividade de ALT ($r=-0,650$, $p=0,001$) e concentração de lactato ($r=-$
 891 $0,456$, $p=0,02$). Não foi observada correlação com os achados do líquido e óbitos
 892 dos recém-nascidos, possivelmente, pelo baixo número de amostras para
 893 comparação ($n=3$: CEL=1; CEM=2).

894 Tabela 2. Composição bioquímica do líquido amniótico de 24 neonatos caninos
 895 nascidos de cesáreas eletivas ($n=14$) e cesáreas emergenciais ($n=10$). Subgrupo de
 896 neonatos vivos ($n=21$) e mortos em até 24 horas ($n=3$).

	CEL (n=14)	CEM (n=10)	Vivos (n=21)	Óbitos (n=3)
ALT (UI/L)	2,0 (0,0-5,0)	4,0 (0,0-35,0)	2,0 ^A (0,0-6,0)	5,0 ^B (3,0-35,0)
FA (UI/L)	52,0 ^a (24,0-81,0)	74,5 ^b (25,0-1553,0)	63,0 (24,0-1553,0)	65,0 (41,0-75,0)
Creatinina (mg/dL)	1,6 (0,8-8,0)	3,4 (1,1-16,7)	2,3 (0,8-16,7)	1,5 (1,1-1,6)
Ureia (mg/dL)	37,5 (24,0-77,0)	42,0 (20,0-162,0)	38,0 (24,0-92,0)	76,0 (20,0-162,0)
Proteínas totais (g/dL)	0,1 (0,0-0,2)	0,1 (0,0-0,5)	0,1 (0,0-0,5)	0,2 (0,1-0,2)
Bilirrubinas totais (mg/dL)	0,2 (0,0-0,2)	0,3 (0,1-1,3)	0,2 (0,0-1,3)	0,1 (0,1-0,5)
Bilirrubina direta (mg/dL)	0,1 ^a (0,0-0,1)	0,1 ^b (0,0-0,9)	0,1 (0,0-0,9)	0,0 (0,0-0,1)
Lactato (mmol/L)	9,7 ^a (5,4-13,4)	14,9 ^b (8,7-24,9)	9,9 (5,4-17,7)	13,4 (11,7-20,3)
Glicose (mg/dL)	19,0 (10,0-37,0)	11,0 (3,0-41,0)	16,5 (3,0-41,0)	26,5 (26,0-27,0)
Cloretos (mmol/L)	111,0 ^a (101,0-117,0)	104,0 ^b (85,0-112,0)	111,0 (85,0-117,0)	111,0 (107,0-112,0)
Potássio (mmol/L)	4,6 ^a (3,8-6,9)	5,5 ^b (4,2-8,0)	4,9 (3,8-6,9)	4,3 (4,2-8,0)
Sódio (mmol/L)	129,5 (127,0-132,5)	129,8 (123,4-132,0)	130,0 (127,0-132,7)	130,7 (124,0-132,7)
Cálcio ionizado (mmol/L)	5,8 (5,0-6,5)	5,6 (3,9-8,7)	5,7 (3,9-6,5)	5,6 (5,2-8,7)

897 Legenda: Os dados estão descritos em mediana (min-max) para cada parâmetro. CEL =
 898 Cesáreas eletivas, CEM = Cesáreas emergenciais.

899 ^{a, b} indicam diferença estatística entre os grupos CEL x CEM ($p < 0,05$).

900 ^{A, B} indicam diferença estatística entre os grupos vivos x mortos em até 24 horas ($p < 0,05$).

901 3.3. Histopatologia da Placenta

902 As 38 placentas dos neonatos avaliados foram incluídas no estudo.
903 As alterações histopatológicas, como necrose, calcificação, hemorragias e infiltrado
904 inflamatório, foram registradas de acordo com o escore.

905 Inicialmente, foi observada a integridade do labirinto placentário e
906 disposição das células trofoblásticas em torno dos vasos maternos e fetais. Os
907 aglomerados celulares se dispõem em forma de cordão e, na presença das lesões,
908 havia perda dessa formação estrutural (Figura 1). A dilatação do lúmen vascular
909 (congestão) foi observada em grande parte das avaliações (Figura 2).

910 Necrose e hemorragia foram as alterações histopatológicas mais
911 identificadas em todos os grupos. Nas áreas de necrose, a estrutura dos cordões
912 celulares foi substituída por debris e tecido conjuntivo (Figura 2). Observou-se
913 variação importante na extensão da lesão, dessa forma, foi realizada classificação
914 pelo escore. Por vezes, a lesão endotelial era extensa suficiente para causar
915 extravasamento de hemácias, caracterizando os focos hemorrágicos (Figura 4).

916 Nem sempre, a perda da arquitetura caracterizou um foco de
917 necrose, como evidenciado na Figura 3, na qual há desorganização das células
918 trofoblásticas, mas sem substituição do tecido. Os focos de calcificação
919 evidenciados pela deposição de material basofílico possuíam diversas formas,
920 tamanhos e estavam dispostos em diferentes locais no labirinto placentário, não foi
921 notada tendência na sua evidenciação (Figura 3 e 6). Também foi possível
922 identificação da presença de células inflamatórias ao redor das lesões,
923 principalmente, de necrose (Figura 5).

924 A comparação entre os grupos CEL e CEM, vivos ou mortos, não
925 evidenciou diferenças entre a presença e extensão das lesões. Contudo, na análise
926 descritiva, observa-se que, mesmo em menor número, os achados de calcificação,
927 infiltrado inflamatório e hemorragia possuem maior extensão no grupo CEM,
928 enquanto a necrose atingiu proporções maiores no grupo CEL (Tabela 3).

929 Durante a análise, não foi observado padrão histopatológico de
930 alterações entre os grupos das cesáreas, neonatos vivos ou mortos. Entretanto,
931 notou-se similaridade entre as alterações histopatológicas nas placentas
932 provenientes de neonatos da mesma ninhada. Somente no grupo CEM, foi
933 observada correlação positiva moderada entre o escore de necrose e de calcificação

934 (r=0,468, p=0,04).

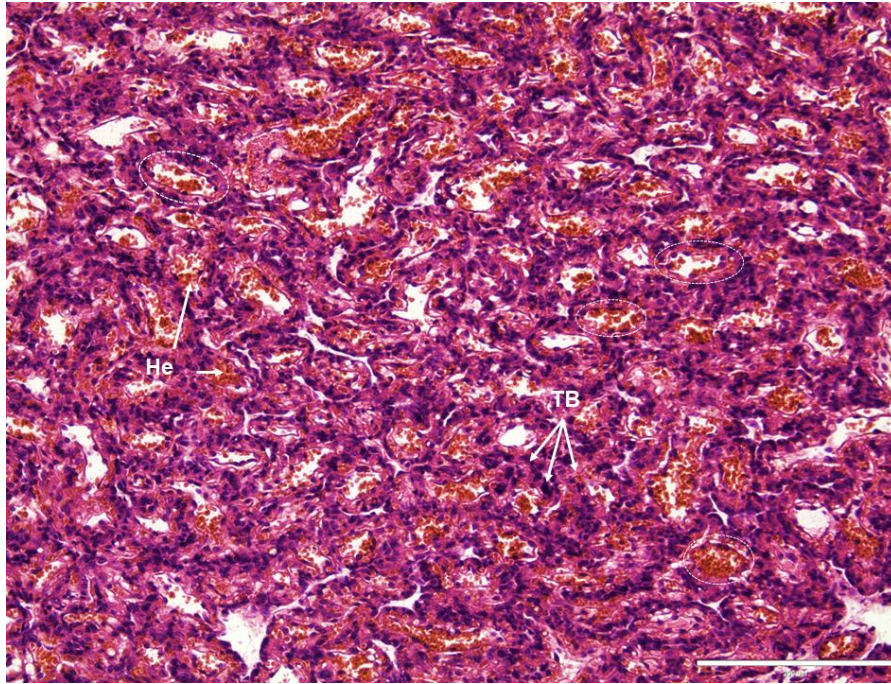
935 Independente do tipo de cesárea, foi constatada correlação
936 negativa fraca entre o escore Apgar e o escore de inflamação (r=-0,369, p=0,02), ou
937 seja, quanto menor o escore Apgar ao nascimento, mais vezes e em maior extensão
938 foi descrita a presença de infiltrado inflamatório no labirinto placentário.

939 Tabela 3. Escore de classificação dos achados histopatológicos no labirinto
 940 placentário canino, nos grupos de cesáreas eletivas x emergenciais e vivos x mortos
 941 em até 24 horas. % (n/n total).

Lesão	Escore	Total	CEL	CEM	Vivos	Mortos
Necrose	0	23,7 (9/38)	21,1 (4/19)	26,3 (5/19)	25 (8/32)	16,7 (1/6)
	1	39,5 (15/38)	31,6 (6/19)	47,4 (9/19)	37,5 (12/32)	50 (3/6)
	2	15,8 (6/38)	26,3 (5/19)	5,3 (1/19)	12,5 (4/32)	33,3 (2/6)
	3	21,1 (8/38)	21,1 (4/19)	21,1 (4/19)	25 (8/32)	0 (0/6)
Calcificação	0	73,7 (28/38)	68,4 (13/19)	78,9 (15/19)	75 (24/32)	66,7 (4/6)
	1	23,7 (9/38)	31,6 (6/19)	15,8 (3/19)	25 (8/32)	16,7 (1/6)
	2	2,6 (1/38)	0 (0/19)	5,3 (1/19)	0 (0/32)	16,7 (1/6)
	3	0 (0/38)	0 (0/19)	0 (0/19)	0 (0/32)	0 (0/6)
Infiltrado inflamatório	0	47,4 (18/38)	57,9 (11/19)	36,8 (7/19)	53,1 (17/32)	16,7 (1/6)
	1	47,4 (18/38)	36,8 (7/19)	57,9 (11/19)	43,8 (14/32)	66,7 (4/6)
	2	5,3 (2/38)	5,3 (1/19)	5,3 (1/19)	3,1 (1/32)	16,7 (1/6)
	3	0 (0/38)	0 (0/19)	0 (0/19)	0 (0/32)	0 (0/6)
Hemorragia	0	44,7 (17/38)	42,1 (8/19)	47,4 (9/19)	40,6 (13/32)	66,7 (4/6)
	1	42,1 (16/38)	52,6 (10/19)	31,6 (6/19)	46,9 (15/32)	16,7 (1/6)
	2	7,9 (3/38)	5,3 (1/19)	10,5 (2/19)	6,3 (2/32)	16,7 (1/6)
	3	5,3 (2/38)	0 (0/19)	10,5 (2/19)	6,3 (2/32)	0 (0/6)

942 Legenda: CEL = Cesáreas eletivas, CEM = Cesáreas emergenciais. Escore: 0 = ausente; 1
 943 = presença discreta em um a dois focos; 2 = presença multifocal; 3 = presença acentuada
 944 em regiões difusas.

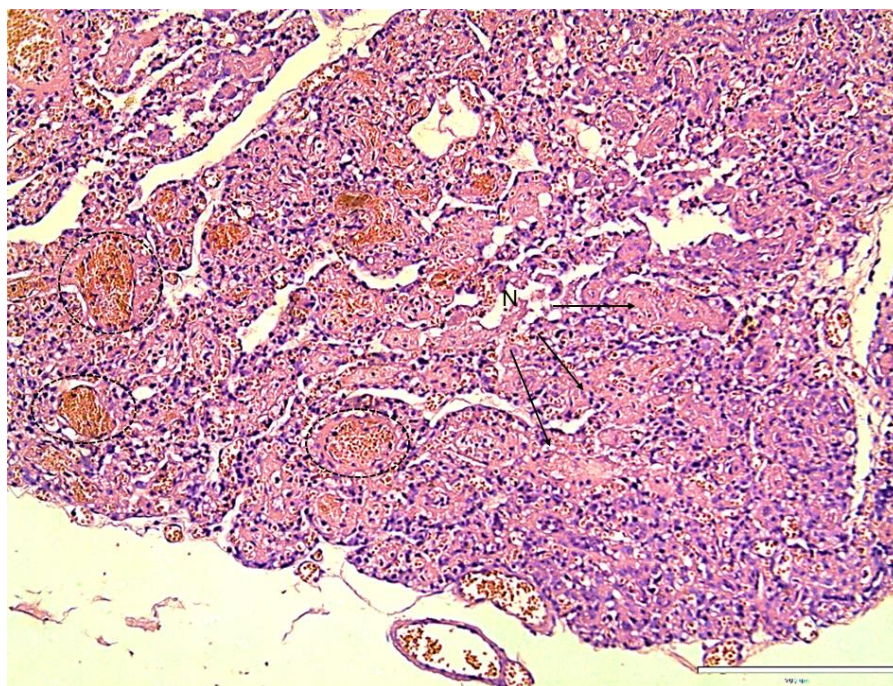
945 Figura 1. Fotomicrografia do labirinto placentário com destaque para a estrutura
946 lamelar do cordão de células do trofoblasto.



947

948 Legenda: Coloração HE. Arquitetura organizada dos cordões de células do
949 trofoblasto (TB), presença de vasos (tracejado), preenchidos por hemácias (He),
950 entremeados formando a estrutura lamelar do labirinto placentário. Escala: 200 μ m.

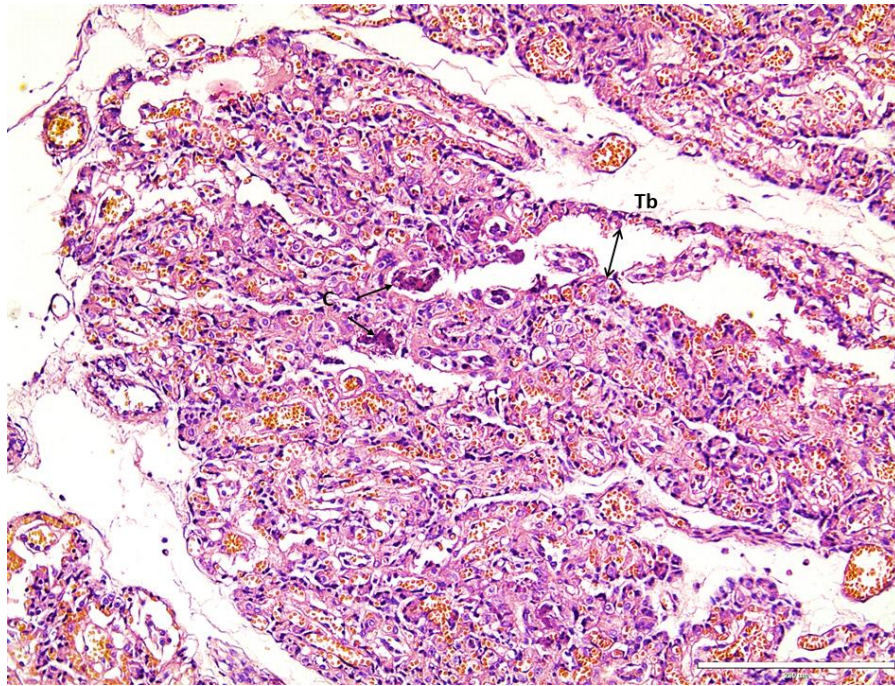
951 Figura 2. Fotomicrografia do labirinto placentário com destaque para áreas de
952 necrose multifocal e congestão de vasos.



953

954 Legenda: Coloração HE. Múltiplos focos de necrose (N) e congestão difusa de vasos
955 sanguíneos, visualizada pela dilatação do lúmen (tracejado). Escala: 200 µm.

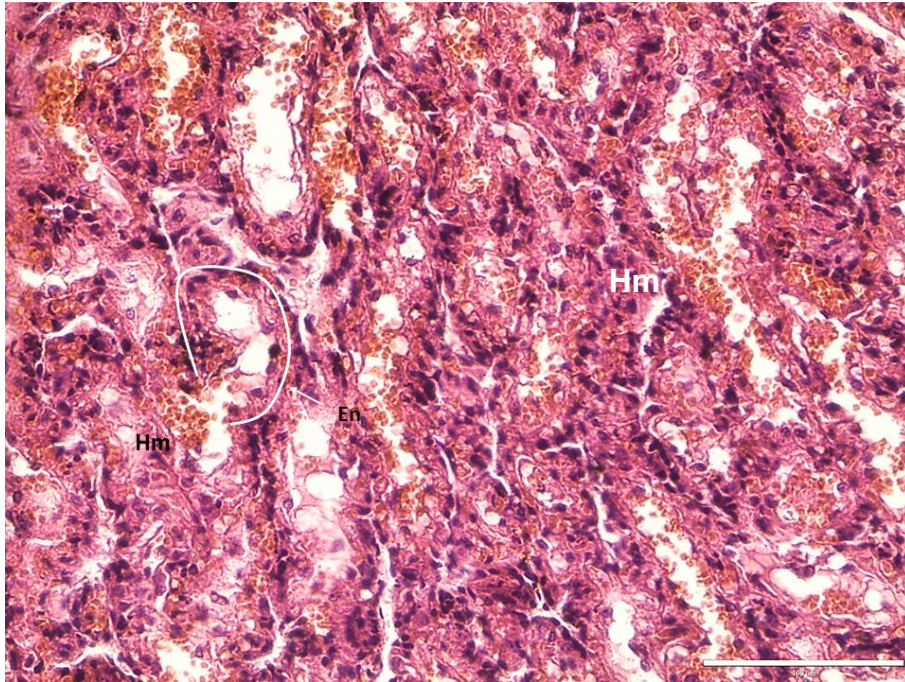
956 Figura 3. Fotomicrografia do labirinto placentário com destaque para pequenos focos
957 de calcificação e perda da arquitetura lamelar.



958

959 Legenda: Coloração HE. Presença de estruturas basofílicas indicando calcificação
960 (C) e desarranjo da estrutura lamelar (seta dupla) com desprendimento do cordão de
961 células trofoblásticas (Tb). Escala: 200 μ m.

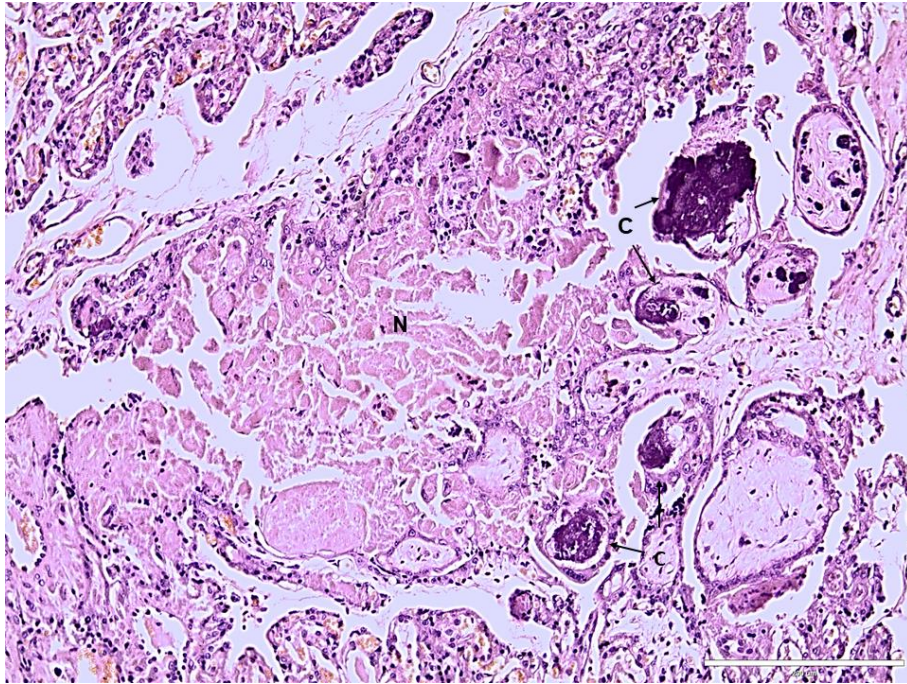
962 Figura 4. Fotomicrografia do labirinto placentário com destaque para hemorragia
963 multifocal.



964

965 Legenda: Coloração HE. Perda da continuidade do endotélio (En) vascular com
966 migração de hemácias para o interstício (Hm). Escala: 100 μ m.

967 Figura 5. Fotomicrografia do labirinto placentário com destaque para ampla área de
968 necrose com calcificação multifocal.



969

970 Legenda: Coloração HE. Extensa área de necrose (N) e múltiplos focos de
971 calcificação caracterizados pela presença de estruturas basofílicas (C). Escala: 200
972 μm .

973 3.3.1. Caracterização das fibras de colágeno

974 As fibras de colágeno se dispõem na placenta de acordo com o
975 arranjo do tecido conjuntivo, moldando a estrutura lamelar e formando o arcabouço
976 que permite a ancoragem das células trofoblásticas e vasos (Figura 7).

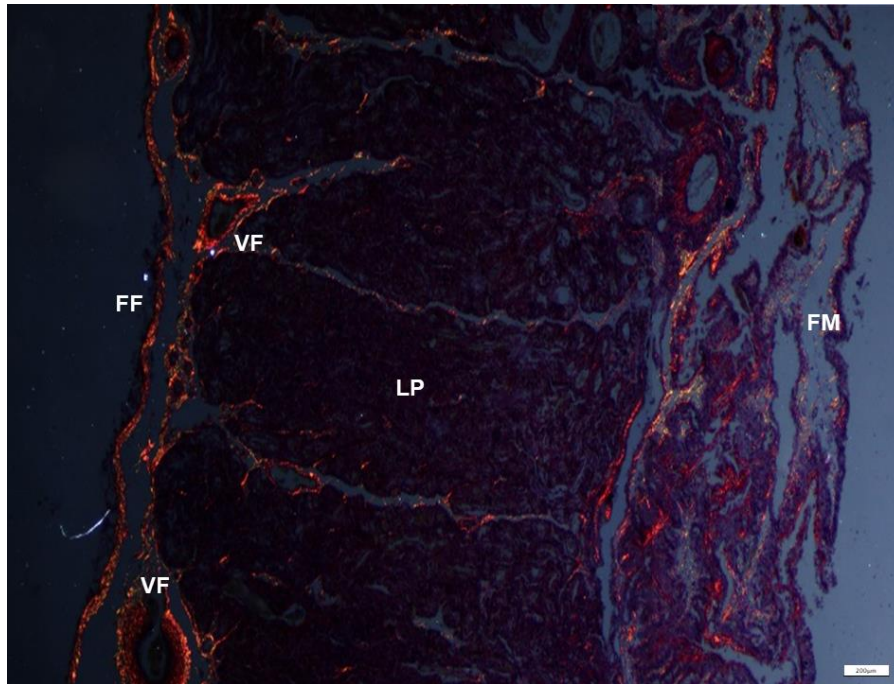
977 A placa coriônica apresentou distribuição da rede de fibras por toda
978 extensão, evidenciando fibras espessas e lineares, de birrefringência avermelhada,
979 entremeadas por fragmentos mais delgados de coloração amarela e esverdeada
980 (Figura 7). Os vasos fetais originários do cordão umbilical estavam dispostos ao
981 longo da placa coriônica e foram destacados pela birrefringência das fibras de
982 colágeno.

983 O labirinto placentário foi delimitado pelos septos de tecido
984 conjuntivo que partiam da placa coriônica, deixando em evidência a característica
985 lamelar. Os septos principais apresentaram maior concentração de fibras colágenas
986 do tipo I, suas ramificações se estenderam para o interior do labirinto em fragmentos
987 mais finos, sugerindo a presença de colágeno do tipo III, principalmente, entremeado
988 às células trofoblásticas (Figura 8). Ao chegar na face materna, principalmente, na
989 zona juncional, as células do trofoblasto se mostraram ancoradas em tecido
990 conjuntivo rico em fibras reticulares. Nesta região, não foi observada birrefringência
991 da parede dos vasos maternos (Figura 7).

992 Por meio da avaliação subjetiva, foi observada manutenção da
993 estrutura lamelar, com demarcação acentuada dos feixes de fibras nos septos e
994 ramificações no interior do labirinto, nas placentas provenientes das cesáreas
995 eletivas. Em contrapartida, nas placentas oriundas das cesáreas emergenciais,
996 notou-se escassez na evidenciação das fibras colágenas, principalmente, nas
997 ramificações que partem dos septos principais.

998 Não foi evidenciado deposição de fibras colágenas nos locais de
999 necrose e calcificação (Figura 9), com exceção de um foco de necrose, em
1000 específico (Figura 10). Neste local, notou-se maior densidade da cor vermelha no
1001 interior da lesão, indicando a uma trama densa de fibras colágenas do tipo I.

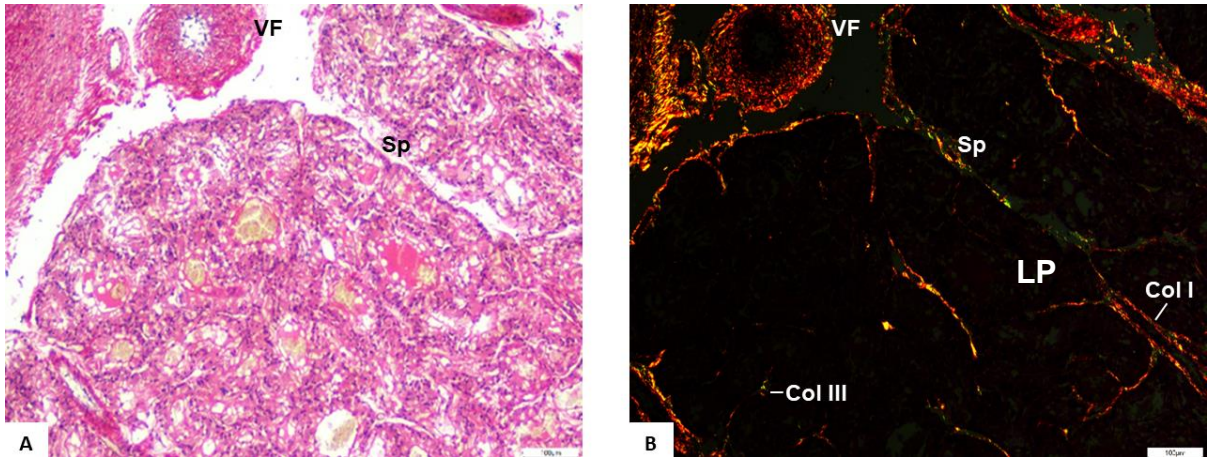
1002 Figura 6. Fotomicrografia panorâmica do corte histológico da placenta sob luz
1003 polarizada.



1004

1005 Legenda: Coloração Picrosirius-Hematoxilina. Na esquerda do corte, observa-se a
1006 face fetal (FF) com destaque à placa coriônica, com grande quantidade de fibras
1007 colágenas alongadas e densas, e aos grandes vasos (VF) provenientes do cordão
1008 umbilical, com paredes circundadas por fibras colágenas. No centro, observam-se os
1009 septos principais derivados da placa coriônica adentrando o labirinto placentário (LP)
1010 caracterizando as lamelas. Na direita, encontra-se a face materna (FM), com grande
1011 quantidade de feixes de colágeno pouco organizados distribuídos pela zona
1012 juncional, sem evidência aos vasos maternos. Escala: 200µm.

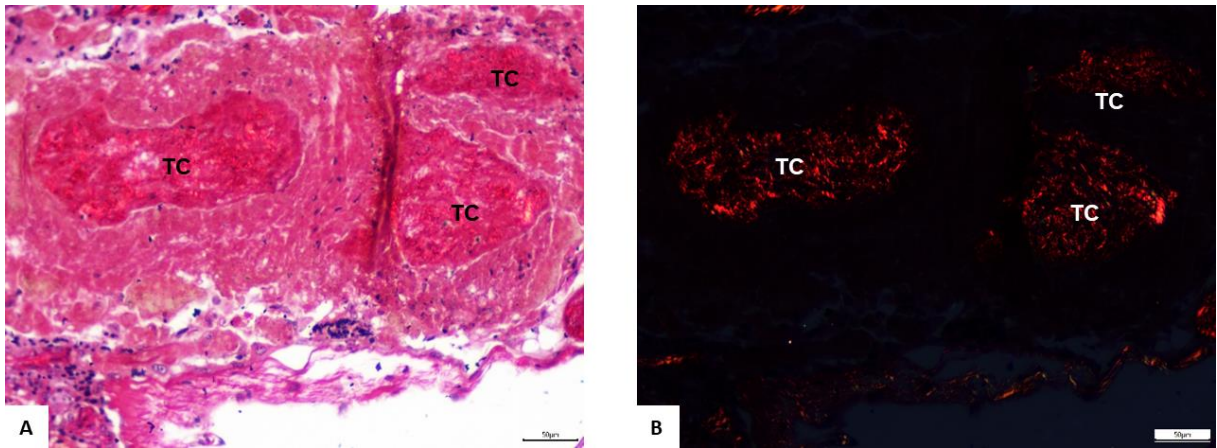
1013 Figura 7. Fotomicrografia da septação do labirinto placentário, proveniente de
1014 cesárea eletiva, a partir de ramificações da placa coriônica.



1015

1016 Legenda: Coloração Picrosirius-Hematoxilina. A esquerda, sob luz convencional. A
1017 direita, sob polarização. Labirinto placentário minimamente birrefringente. Predomínio
1018 de fibras colágenas espessas delimitando os septos principais (Sp), enquanto são
1019 observados fragmentos de fibra, amarelo-verde, adentrando o labirinto placentário.
1020 VF: Vaso fetal; LP: Labirinto placentário; Col I: Fibra colágena tipo I; Col III: Fibra
1021 colágena tipo III. Escala: 100µm.

1022 Figura 8. Fotomicrografia de lesão de necrose extensa no labirinto placentário.



1023

1024 Legenda: Coloração Picrosirius-Hematoxilina. A esquerda, sob luz convencional. A
1025 direita, sob polarização. Extensa área de necrose com presença de tecido conjuntivo
1026 no seu interior (TC). Observa-se predomínio de fibras colágenas densas e espessas
1027 no interior da lesão. Escala: 50µm.

1028 3.4. Comparação entre os achados do líquido amniótico e placenta

1029 Para avaliar o efeito do tipo cesárea, da composição do líquido
1030 amniótico e das alterações histopatológicas da placenta foram realizados testes de
1031 correlação para cada variável.

1032 Os resultados evidenciaram correlação negativa moderada entre a
1033 concentração de glicose do líquido amniótico para o escore de necrose ($r=-0,609$,
1034 $p=0,003$) e de calcificação ($r=-0,537$, $p=0,01$). Isto é, o escore relativo à presença de
1035 necrose e calcificação no labirinto placentário é inversamente proporcional a
1036 concentração de glicose no líquido amniótico. Outra evidência estatística é a
1037 correlação negativa moderada para o escore de calcificação e a concentração de
1038 ureia do líquido ($r=-0,501$, $p=0,01$).

1039 Não foi encontrada correlação no conjunto das variáveis nos
1040 neonatos que vieram à óbito nas primeiras 24 horas de vida.

1041 4. DISCUSSÃO

1042 Tanto na cesariana eletiva como na emergencial, 36,8% dos recém-
1043 nascidos apresentavam escore Apgar acima de 7, ou seja, estavam inclusos no
1044 grupo de risco mínimo ao nascimento. Sabe-se que o tipo de parto interfere
1045 diretamente na classificação de viabilidade neonatal [16] e que o tipo de anestesia
1046 possui impacto significativo no escore Apgar até os 60 minutos de vida [18].

1047 Visto que os dois grupos avaliados foram submetidos a
1048 procedimento cirúrgico, foi identificado o escore Apgar em T0 inferior a 3 em 42,1%
1049 dos neonatos do grupo CEM e em 21,1% do grupo CEL. Esses achados condizem
1050 com o descrito por Cornelius e colaboradores [6] afirmando que os neonatos
1051 oriundos de cesáreas emergenciais tendem a apresentar menor viabilidade ao
1052 nascimento em comparação com as eletivas. De toda forma, após cinco minutos de
1053 reanimação, considerado o tempo mínimo necessário para transição feto-neonatal,
1054 ambos os grupos apresentaram a maioria dos filhotes (CEL = 89,5%, CEM = 73,7%)
1055 fora do grupo de risco (Apgar ≥ 7). É incontestável a eficiência do método em
1056 predizer o grupo de risco ao qual o recém-nascido pertence, pois no grupo “óbitos”,
1057 100% dos neonatos apresentavam risco grave em T0 e 66,7% foram incluídos no
1058 grupo de risco moderado em T5.

1059 A partir da análise da bioquímica do líquido amniótico e comparação
1060 entre os tipos de cesárea foi possível verificar diferença entre a atividade de FA
1061 ($p=0,035$) e concentrações de lactato ($p<0,001$), bilirrubina direta ($p=0,039$), potássio
1062 ($p=0,031$) e cloretos ($p<0,001$).

1063 Pode-se discutir a diferença na atividade de FA entre as CEM (med
1064 74,5) e CEL (med 52,0) a partir da elucidação da atividade placentária. A fosfatase
1065 alcalina é uma enzima de indução que pode ter sua produção aumentada em casos
1066 de hipóxia e sob estímulo do cortisol. Filhotes nascidos por cesáreas emergenciais
1067 apresentam níveis de cortisol sérico e do LA mais elevado [19]. Portanto, acredita-se
1068 que a origem deste aumento de FA seja proveniente da placenta em decorrência
1069 das alterações desencadeadas pela distocia, reafirmando estudos que
1070 demonstraram a insuficiência placentária como fator ao aumento da atividade da
1071 enzima no LA em partos emergenciais [20].

1072 Nas cesáreas emergenciais, o período de hipóxia foi prolongado,
1073 podendo justificar a maior atividade de FA, uma vez que a atividade placentária

1074 depende diretamente de boa oxigenação e manutenção da circulação para que não
1075 ocorra insuficiência na transferência ao feto. Em situações de baixa perfusão, ocorre
1076 a autorregulação da oxigenação da placenta que minimiza seu consumo visando
1077 manter a perfusão fetal, a partir do momento que a hipóxia se torna insustentável, o
1078 metabolismo fetal é comprometido [21].

1079 Os resultados da concentração de lactato encontrada no LA de
1080 neonatos nascidos de cesáreas emergenciais (14,9 mmol/L) foi superior os valores
1081 encontrados nas eletivas (9.7 mmol/L) e ao descrito previamente para cesáreas
1082 eletivas (8.7 mmol/l [22]). Bolis e colaboradores [5] apresentam resultados
1083 semelhantes de 7.99 mmol/L. Apesar de apresentar menores valores de saturação
1084 de oxigênio e maior concentração de lactato sérico de forma fisiológica [23], em
1085 períodos prolongados de hipóxia, o impacto do comprometimento da circulação
1086 placentária induz um quadro de acidose metabólica fetal, decorrente da produção de
1087 lactato tecidual a partir do metabolismo anaeróbico [24]. Visto que os óbitos em até
1088 24 horas também apresentam mediana (13.4 mmol/L) superior ao descrito nos
1089 trabalhos acima citados, é possível indicar a concentração de lactato do LA como um
1090 biomarcador da viabilidade neonatal, assim como é utilizada a concentração sérica
1091 em filhotes e adultos [23].

1092 O presente estudo não detectou diferença estatística na
1093 concentração de glicose ($p=0,28$) entre as cesáreas e entre neonatos vivos e
1094 mortos, porém foi observada diminuição da concentração mediana no LA do grupo
1095 CEM. A literatura descreve valores inferiores à concentração sérica e diminuição da
1096 concentração no LA em neonatos caninos [5,12,22], felinos [25] e equinos [26] que
1097 vieram a óbito nas primeiras 24 a 48 horas, reafirmando o impacto da hipoglicemia e
1098 acidose metabólica na mortalidade de recém-nascidos de qualquer espécie.

1099 Com relação a diferença eletrolítica encontrada nos dois tipos de
1100 cesárea, sugere-se que o acúmulo de potássio (5,5 mmol/L CEM > 4,6 mmol/L CEL,
1101 $p=0,31$) e depleção dos cloretos (104 mmol/L CEM > 111 mmol/L CEL, $p<0,001$)
1102 seja desencadeado pelo status de acidose. Os íons H^+ livres são transportados para
1103 o interior das células em troca do K^+ intracelular, promovendo o acúmulo de
1104 potássio no meio extracelular prejudicando a reabsorção do cloro [27]. Dados
1105 semelhantes na concentração dos eletrólitos foram descritos por Veronesi e
1106 colaboradores [12] e Aralla e colaboradores [4].

1107 Na literatura, não foram encontrados dados suficientes para explicar
1108 a diferença observada na concentração de bilirrubina direta. Superficialmente,
1109 Underwood e colaboradores [28] descrevem o aumento da bilirrubina direta em
1110 casos de hemólise fetal.

1111 A concentração dos marcadores da função renal não apresentou
1112 diferença (creatinina: $p=0,198$; ureia: $p=0,95$) entre os grupos CEL e CEM, contudo,
1113 nota-se um aumento da mediana em CEM ($C=3,4$ mg/dL, $U=42,0$ mg/dL) quando
1114 comparado com o grupo CEL ($C=1,6$ mg/dL, $U=37,5$ mg/dL). Partindo da afirmação
1115 que a composição do líquido é produto da urina fetal, metabólitos do sistema
1116 respiratório, gastroentérico e do cordão umbilical [28], a maior concentração desses
1117 marcadores justifica-se pelo tempo de parto e excreção prolongada destes fluidos.

1118 Por fim, a concentração de proteínas totais ($p=0,58$), sódio ($p=0,62$)
1119 e cálcio ($p=0,58$) entre os grupos CEM e CEL foram muito semelhantes e,
1120 possivelmente, recebem pouca influência do tipo de cesárea.

1121 Houve grande diferença entre o número de neonatos vivos ($n=21$) e
1122 mortos ($n=3$) em até 24 horas, por esse fato, não foi possível detectar variações
1123 significativas na composição do líquido entre os dois grupos, além da atividade de
1124 ALT. Assim como observado por Veronesi e colaboradores [12], em cães, e por
1125 Bligliardi e colaboradores [25], em gatos, o aumento da atividade de ALT possui
1126 pouco significado clínico, visto que é uma enzima marcadora de lesão celular não-
1127 específica. Portanto, é necessário correlacionar este achado a lesões em outros
1128 sistemas, como, por exemplo, infecções causadoras de sepse, a principal causa de
1129 mortalidade em neonatos [1].

1130 Os resultados da avaliação e classificação das lesões
1131 histopatológicas deste estudo indicam a importância da análise microscópica do
1132 órgão com o objetivo de descrever as alterações encontradas nas placentas a termo,
1133 apesar de não haver diferença estatística entre os grupos avaliados, incluindo os
1134 nascidos vivos e mortos em até 24 horas. Assim como descrito na medicina humana,
1135 somente a presença destas alterações não interfere no funcionamento adequado do
1136 órgão, sem correlação com o status de saúde dos recém-nascidos [29]. Entretanto,
1137 no caso de lesões mais extensas, pode haver impacto na saúde materna e fetal.
1138 Como observado por Sarli e colaboradores [8], a incidência de lesões necróticas
1139 multifocais e confluentes se mostrou associada a pior prognóstico de viabilidade até
1140 sete dias do nascimento.

1141 No geral, a estrutura placentária é determinada pelas características
1142 da matriz extracelular (MEC), responsável pela formação do arcabouço para
1143 sustentação do trofoblasto e vasos sanguíneos [8]. As fibras colágenas formam
1144 agregados para sustentar esta arquitetura, mantendo o suporte e característica
1145 lamelar da placenta canina, como visualizado na Figura 9. Contudo, a conformação
1146 e composição da matriz pode se alterar em consequência de danos causados por
1147 alterações vasculares e no suprimento de oxigênio [30]. Como observado de forma
1148 subjetiva neste estudo, as placentas provenientes de cadelas em distocia
1149 demonstraram maior desarranjo estrutural e na disposição das fibras de colágeno,
1150 comprometendo a delimitação das lamelas.

1151 Foi avaliada a presença de necrose, calcificação, infiltrado
1152 inflamatório e hemorragias pelo labirinto placentário. A etiologia dessas lesões ainda
1153 é pouco descrita na literatura, acredita-se que distúrbios circulatórios,
1154 consequentemente, a hipóxia seja a principal causa das alterações descritas.
1155 Contudo, não está necessariamente relacionada somente ao momento do parto,
1156 podendo se tratar de lesões crônicas [8]. Em qualquer momento da gestação, pode
1157 ocorrer o bloqueio da circulação local, como consequência de trombos e infartos,
1158 privando as células de oxigênio e induzindo a morte celular [9,29]. Dessa forma, a
1159 MEC sofre degradação e remodelamento, culminando na deposição das fibras de
1160 colágeno nas lesões [30].

1161 É importante ressaltar que a coloração de Picrosirius-Hematoxilina
1162 permite a visualização de fibras colágenas espessas e delgadas, caracterizadas
1163 como colágeno tipo I e tipo III, respectivamente [31]. A literatura descreve que a
1164 ausência destas fibras se justifica pela formação de feixes de diâmetros distintos nos
1165 locais de lesão [30]. Dessa forma, a ausência de birrefringência nas lesões avaliadas
1166 neste estudo também pode ser discutida com base afirmação, sendo necessário a
1167 utilização de outros métodos para detecção de colágeno, como a
1168 imunohistoquímica.

1169 Segundo Courtoy e colaboradores [31], a deposição de fibras
1170 colágeno tipo I, birrefringentes em vermelho no método de coloração Picrosirius-
1171 Hematoxilina, estão associadas a quadros mais graves de fibrose. A deposição de
1172 colágeno encontrada no interior da área de necrose pode ter sido desencadeada por
1173 um estado de hipóxia anterior ao parto, caracterizando uma lesão antiga em
1174 processo de reparo.

1175 Outro mecanismo de reparo é a indução da deposição distrófica de
1176 cristais de cálcio na ocorrência de necrose e degeneração das células trofoblásticas.
1177 Por isso são observados pequenos focos de calcificação no labirinto placentário,
1178 sustentando a correlação positiva moderada ($r=0,48$, $p=0,04$) encontrada nos
1179 escores de necrose e calcificação do grupo CEM neste estudo. A respeito do reflexo
1180 clínico, Sarli e colaboradores [8] descrevem que focos extensos de mineralização
1181 acompanhados da presença de lesões necróticas difusas estão relacionados aos
1182 neonatos que vieram a óbito em até sete dias após o nascimento. Em contrapartida,
1183 Tesi e colaboradores [9] observaram que as lesões necróticas de maior extensão
1184 pertenciam a neonatos perfeitamente saudáveis e peso ideal. Sendo assim, a
1185 patogenia e consequência desta lesão continua um questionamento para os
1186 pesquisadores.

1187 A presença de pequenos focos hemorrágicos, como observado na
1188 avaliação de 42,1% (escore 1) dos neonatos, é amparada devido a característica de
1189 invasividade da placenta canina, classificada como parcialmente decídua. Alguns
1190 animais do grupo CEM apresentaram lesões mais extensas (escore 2 = 10,6%,
1191 escore 3 = 10,6%) e grande quantidade de hemácias no interstício. Pode-se assumir
1192 que essas alterações estejam associadas ao trauma promovido pelas contrações
1193 improdutivas em longos trabalhos de parto [9,26], contudo, déficits de coagulação de
1194 origem materna também devem ser levados em consideração.

1195 Observou-se correlação negativa moderada ($r=-0,369$, $p=0,028$)
1196 entre o escore Apgar e a presença de infiltrado inflamatório. Contudo, assim como
1197 descrito em cães [9] e em humanos [29], a detecção de células inflamatórias no
1198 labirinto placentário ou no interior dos vasos não evidenciou associação com
1199 processos inflamatórios ou infecciosos. Pode-se assumir que está relacionada ao
1200 início do processo de degeneração e necrose [8].

1201 Com relação ao efeito da composição do líquido amniótico nas
1202 lesões placentárias, foi descrita correlação negativa moderada entre a concentração
1203 de glicose e o escore de necrose ($r=-0,609$, $p=0,003$) e de calcificação ($r=-0,537$,
1204 $p=0,01$).

1205 Em situações desfavoráveis para a célula, como a baixa saturação
1206 de oxigênio e a depleção de ATP, são desencadeados desequilíbrios que têm por
1207 consequência a necrose. Inicialmente, ocorre a ruptura da membrana celular e
1208 extravasamento de substâncias para o espaço extracelular, atraindo as células

1209 inflamatórias [32]. De acordo com os resultados, observa-se correlação dos achados
1210 de necrose com situações muito semelhantes a estas descritas.

1211 Visto que a presença de danos ao labirinto placentário é inevitável
1212 ao longo da gestação e em diferentes tipos de parto, a autorregulação da placenta é
1213 de extrema importância para que sua função como membrana seletiva entre a
1214 circulação materna e fetal seja cumprida. O tecido placentário possui plasticidade e
1215 sistema próprio de reparo tecidual para manter sua arquitetura e minimizar os danos
1216 ao concepto [33].

1217 A partir da avaliação histopatológica, os achados do labirinto
1218 placentário indicaram semelhança entre filhotes de mesma ninhada e, não
1219 necessariamente, entre os nascidos pelo mesmo tipo de cesárea. Esse dado infere
1220 que há pouca influência do tipo de parto nas alterações descritas, porém podem
1221 estar associados às particularidades maternas. A insuficiência placentária, no geral,
1222 está relacionada à saúde materna. Os fatores que interferem na perfusão placentária
1223 e o bom desenvolvimento gestacional estão relacionados a doenças
1224 infectocontagiosas, endócrinas e degenerativas, ao escore corporal da mãe, ao
1225 número de partos e idade da cadela, bem como o tamanho da ninhada [34].

1226 5. CONCLUSÕES

1227 A atividade de FA e concentrações de lactato, potássio e cloretos no
1228 líquido amniótico são indicadores de insuficiência placentária e acidose metabólica
1229 em neonatos provenientes de cesáreas emergenciais e interferem na viabilidade
1230 neonatal. A análise histopatológica da placenta canina se mostrou um exame
1231 complementar pouco elucidativo como marcador preditivo da viabilidade neonatal,
1232 contudo, em associação à coloração de Picrosirius-Hematoxilina, é possível
1233 visualizar alterações estruturais da matriz extracelular em cesáreas emergenciais.

1234

1235 ÓRGÃO DE FOMENTO

1236 O suporte financeiro para esta pesquisa foi fornecido pela CAPES por meio da bolsa
1237 de mestrado.

1238 REFERÊNCIAS

- 1239 [1] Pereira KHNP, Fuchs K da M, Hibiru VY, Correia LEC dos S, Ferreira JCP,
1240 Ferreira de Souza F, et al. Neonatal sepsis in dogs: Incidence, clinical aspects
1241 and mortality. *Theriogenology* 2022;177:103–15.
1242 <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2021.10.015>.
- 1243 [2] Kowalewski MP, Kazemian A, Klisch K, Gysin T, Tavares Pereira M, Gram A.
1244 Canine Endotheliochorial Placenta: Morpho-Functional Aspects. *Adv Anat*
1245 *Embryol Cell Biol* 2021;234:155–79. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-77360-](https://doi.org/10.1007/978-3-030-77360-1_8/COVER)
1246 [1_8/COVER](https://doi.org/10.1007/978-3-030-77360-1_8/COVER).
- 1247 [3] Tal S, Sutton GA, Arlt SP, Bar-Gal GK. Analysis of biochemical parameters in
1248 canine fetal fluids during the second half of pregnancy. *Theriogenology*
1249 2022;189:31–41. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.05.009>.
- 1250 [4] Aralla M, Mobasheri A, Groppetti D, Cremonesi F, Arrighi S. Expression of
1251 aquaporin water channels in canine fetal adnexa in respect to the regulation of
1252 amniotic fluid production and absorption. *Placenta* 2012;33:502–10.
1253 <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2012.02.017>.
- 1254 [5] Bolis B, Scarpa P, Rota A, Vitiello T, Veronesi MC. Association of amniotic uric
1255 acid, glucose, lactate and creatinine concentrations and lactate/creatinine ratio
1256 with newborn survival in small-sized dogs - Preliminary results. *Acta Vet Hung*
1257 2018;66:125–36. <https://doi.org/10.1556/004.2018.012>.
- 1258 [6] Cornelius AJ, Moxon R, Russenberger J, Havlena B, Cheong SH. Identifying
1259 risk factors for canine dystocia and stillbirths. *Theriogenology* 2019;128:201–6.
1260 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.02.009>.
- 1261 [7] Mila H, Grellet A, Delebarre M, Mariani C, Feugier A, Chastant-Maillard S.
1262 Monitoring of the newborn dog and prediction of neonatal mortality. *Prev Vet*
1263 *Med* 2017;143:11–20. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.05.005>.
- 1264 [8] Sarli G, Castagnetti C, Bianco C, Ballotta G, Tura G, Caporaletti M, et al.
1265 Canine placenta histological findings and microvascular density: The
1266 histological basis of a negative neonatal outcome? *Animals* 2021;11.
1267 <https://doi.org/10.3390/ani11051418>.
- 1268 [9] Tesi M, Miragliotta V, Scala L, Aronica E, Lazzarini G, Fanelli D, et al. Gross
1269 and histological findings in the canine placenta and amnion at term: What's
1270 normal, abnormal or pathological? *Reproduction in Domestic Animals*
1271 2021;56:691–702. <https://doi.org/10.1111/rda.13905>.
- 1272 [10] Bolis B, Prandi A, Rota A, Faustini M, Veronesi MC. Cortisol fetal fluid
1273 concentrations in term pregnancy of small-sized purebred dogs and its
1274 preliminary relation to first 24 hours survival of newborns. *Theriogenology*
1275 2017;88:264–9. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.09.037>.
- 1276 [11] Fusi J, Bolis B, Probo M, Faustini M, Carluccio A, Veronesi MC. Clinical Trial
1277 on the Usefulness of On-Site Evaluation of Canine Fetal Fluids by Reagent
1278 Test Strip in Puppies at Elective Caesarean Section. *Biology (Basel)* 2022;11.
1279 <https://doi.org/10.3390/biology11010038>.
- 1280 [12] Veronesi MC, Bolis B, Faustini M, Rota A, Mollo A. Biochemical composition of
1281 fetal fluids in at term, normal developed, healthy, viable dogs and preliminary
1282 data from pathologic littermates. *Theriogenology* 2018;108:277–83.
1283 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.029>.
- 1284 [13] Lopate C. Gestational Aging and Determination of Parturition Date in the Bitch
1285 and Queen Using Ultrasonography and Radiography. *Veterinary Clinics of*
1286 *North America - Small Animal Practice* 2018;48:617–38.

- 1287 <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.02.008>.
- 1288 [14] Smith FO. Guide to Emergency Interception During Parturition in the Dog and
1289 Cat. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* 2012;42:489–
1290 99. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.02.001>.
- 1291 [15] Antończyk A, Ochota M, Niżański W. Umbilical cord blood gas parameters and
1292 apgar scoring in assessment of new-born dogs delivered by cesarean section.
1293 *Animals* 2021;11:1–13. <https://doi.org/10.3390/ani11030685>.
- 1294 [16] Veronesi MC. Assessment of canine neonatal viability—the Apgar score.
1295 *Reproduction in Domestic Animals* 2016;51:46–50.
1296 <https://doi.org/10.1111/rda.12787>.
- 1297 [17] Lattouf R, Younes R, Lutomski D, Naaman N, Godeau G, Senni K, et al.
1298 Picrosirius Red Staining: A Useful Tool to Appraise Collagen Networks in
1299 Normal and Pathological Tissues. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*
1300 2014;62:751–8. <https://doi.org/10.1369/0022155414545787/FORMAT/EPUB>.
- 1301 [18] Doebeli A, Michel E, Bettschart-Wolfensberger R, Hartnack S, Reichler IM.
1302 Apgar score after induction of anesthesia for canine cesarean section with
1303 alfaxalone versus propofol. *Theriogenology* 2013;80:850–4.
1304 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.07.006>.
- 1305 [19] Fusi J, Carluccio A, Peric T, Faustini M, Prandi A, Veronesi MC. Effect of
1306 Delivery by Emergency or Elective Cesarean Section on Nitric Oxide
1307 Metabolites and Cortisol Amniotic Concentrations in at Term Normal Newborn
1308 Dogs: Preliminary Results. *Animals* 2021, Vol 11, Page 713 2021;11:713.
1309 <https://doi.org/10.3390/ANI11030713>.
- 1310 [20] Wilkof-Segev R, Hallak M, Gabbay-Benziv R. Extremely high levels of alkaline
1311 phosphatase and pregnancy outcome: case series and review of the literature.
1312 *J Perinat Med* 2020;49:191–4. <https://doi.org/10.1515/JPM-2020-0205>.
- 1313 [21] Carter AM. Placental gas exchange and the oxygen supply to the fetus. *Compr*
1314 *Physiol* 2015;5:1381–403. <https://doi.org/10.1002/cphy.c140073>.
- 1315 [22] Groppetti D, Martino PA, Ravasio G, Bronzo V, Pecile A. Prognostic potential
1316 of amniotic fluid analysis at birth on canine neonatal outcomes. *Veterinary*
1317 *Journal* 2015;206:423–5. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.08.026>.
- 1318 [23] Castagnetti C, Cunto M, Bini C, Mariella J, Capolongo S, Zambelli D. Time-
1319 dependent changes and prognostic value of lactatemia during the first 24 h of
1320 life in brachycephalic newborn dogs. *Theriogenology* 2017;94:100–4.
1321 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.01.040>.
- 1322 [24] Almeida LL, Abreu RA de, Brito MM, Gardés TP, Flores RB, Rosa Filho RR da,
1323 et al. Both spontaneous vaginal delivery and elective caesarean section
1324 influence neonatal redox status in dogs. *Veterinary Record* 2022;190:e1082.
1325 <https://doi.org/10.1002/vetr.1082>.
- 1326 [25] Bigliardi E, Rizzi M, Bertocchi M, Denti L, Bresciani C, Vetere A, et al.
1327 Evaluation of Biochemical Composition of Amniotic and Allantoic Fluids at
1328 Different Stages of Pregnancy in Queens. *Animals* 2022;12.
1329 <https://doi.org/10.3390/ani12111414>.
- 1330 [26] Pirrone A, Antonelli C, Mariella J, Castagnetti C. Gross placental morphology
1331 and foal serum biochemistry as predictors of foal health. *Theriogenology*
1332 2014;81:1293–9. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2014.02.011>.
- 1333 [27] Seifter JL. Body Fluid Compartments, Cell Membrane Ion Transport, Electrolyte
1334 Concentrations, and Acid-Base Balance. *Semin Nephrol* 2019;39:368–79.
1335 <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2019.04.006>.
- 1336 [28] Underwood MA, Gilbert WM, Sherman MP. Amniotic fluid: Not just fetal urine

- 1337 anymore. *Journal of Perinatology* 2005;25:341–8.
1338 <https://doi.org/10.1038/sj.jp.7211290>.
- 1339 [29] Mastrolia SA, Weintraub AY, Sciaky-Tamir Y, Tirosh D, Loverro G, HersHKovitz
1340 R. Placental calcifications: A clue for the identification of high-risk fetuses in the
1341 low-risk pregnant population? *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*
1342 2016;29:921–7. <https://doi.org/10.3109/14767058.2015.1023709>.
- 1343 [30] Ortega MA, Asúnsolo Á, Álvarez-Rocha MJ, Romero B, León-Luis J de,
1344 Álvarez-Mon M, et al. Remodelling of collagen fibres in the placentas of women
1345 with venous insufficiency during pregnancy. *Histol Histopathol* 2018;33:567–76.
1346 <https://doi.org/10.14670/HH-11-948>.
- 1347 [31] Courtoy GE, Leclercq I, Froidure A, Schiano G, Morelle J, Devuyst O, et al.
1348 Digital Image Analysis of Picrosirius Red Staining: A Robust Method for Multi-
1349 Organ Fibrosis Quantification and Characterization. *Biomolecules* 2020;10.
1350 <https://doi.org/10.3390/biom10111585>.
- 1351 [32] Nirmala JG, Lopus M. Cell death mechanisms in eukaryotes. *Cell Biol Toxicol*
1352 2020;36:145–64. <https://doi.org/10.1007/s10565-019-09496-2>.
- 1353 [33] Ning J, Zhang M, Cui D, Yang H. The pathologic changes of human placental
1354 macrophages in women with hyperglycemia in pregnancy. *Placenta*
1355 2022;130:60–6. <https://doi.org/10.1016/J.PLACENTA.2022.11.004>.
- 1356 [34] Tesi M, Miragliotta V, Scala L, Aronica E, Lazzarini G, Fanelli D, et al.
1357 Relationship between placental characteristics and puppies' birth weight in toy
1358 and small sized dog breeds. *Theriogenology* 2020;141:1–8.
1359 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.08.017>.
- 1360

1361 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

1362 O estudo foi realizado em um curto período, conseqüentemente, não
1363 foi possível ampliar o número de amostras dos dois grupos em questão. Porém,
1364 ficamos muito satisfeitos que o percentual de óbitos foi muito inferior ao sucesso das
1365 reanimações neonatais. Em relação a colheita das amostras, houve uma grande
1366 dificuldade no início do experimento, foi necessário realizar parte do experimento em
1367 clínicas particulares, por conta da casuísta do HV-UEL. O conhecimento técnico para
1368 as análises histopatológicas foi adquirido no decorrer dos dias, com suporte de
1369 outras áreas e muita dedicação para aprender algumas metodologias desde o início.
1370 Enfrentamos o novo para possibilitar participação em todas as etapas do trabalho.

1371 Futuramente, planejamos ampliar os dados a fim de ampliar os
1372 resultados como correlacionar os achados hematológicos da mãe e do feto à
1373 composição do líquido amniótico nas duas situações de cesárea; realizar a análise
1374 proteômica do líquido amniótico; utilizar marcadores funcionais no labirinto
1375 placentário para melhor descrição de seu mecanismo e deficiências que possam
1376 ocorrer e acompanhar os filhotes por maior período.