PRINCIPAIS APLICAÇÕES DA ULTRASSONOGRAFIA MODO DOPPLER NA REPRODUÇÃO EM ÉGUAS

Marcus André Ferreira Sá¹, Gabriel Almeida Dutra¹, Bruno Gomes Nogueira², Natalia de Figueiredo³, Júlio César Ferraz Jacob⁴

¹Doutor em Medicina Veterinária – Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, Brasil.

Docente do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Barra Mansa (UBM), Barra Mansa, RJ, Brasil. E-mail para correspondência: marcus.ferreira85@hotmail.com

²Doutorando Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande/MS, Brasil. Docente do Curso de Zootecnia da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Aquidauana/MS, Brasil.

³Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária – UFRRJ – Seropédica/RJ, Brasil.

⁴Doutor, Docente do Curso de Medicina Veterinária – UFRRJ – Seropédica/RJ, Brasil.

Recebido em: 02/10/2017 – Aprovado em: 21/11/2017 – Publicado em: 05/12/2017

DOI: 10.18677/EnciBio_2017B127

RESUMO

A ultrassonografia modo Doppler tem sido utilizada para acompanhar e avaliar a vascularização do sistema reprodutor de fêmeas equinas. Trata-se de uma tecnologia emergente na Medicina Veterinária que visa análise da vascularização diretamente no local de interesse. Esta ferramenta de análise fornece não apenas informações atuais da estrutura, bem como é capaz de prever condições futuras, como o potencial de dominância de um folículo ou ainda sua capacidade ovulatória. O modo Power-flow possibilita estudar vasos de pequeno calibre e tortuosos, numerosos no sistema reprodutor de grandes animais. Já o modo espectral é considerado inadequado devido aos sinais de Doppler no endométrio. Para análise do fluxo sanguíneo do corpo lúteo, o modo Doppler consegue detectar alterações durante o ciclo estral e diferenças individuais na vascularização. O exame da estrutura lútea por meio da ultrassonografia modo Doppler de éguas receptoras é uma ferramenta importante, pois auxilia na seleção de animais com perfil sérico de progesterona adequado para o desenvolvimento do embrião e manutenção da gestação. Outra aplicabilidade da ultrassonografia modo Doppler encontrada na literatura consiste na análise de folículos hemorrágicos anovulatórios, que desenvolveram tecido luteal bem vascularizado como indicado através da ecotextura, sinais Doppler colorido e pela produção de progesterona em níveis próximos ao normal. Sendo assim, esta técnica apresenta inúmeras aplicações como método complementar de diagnóstico sobre o sistema reprodutor de éguas. Apesar dos estudos já existentes, novos estudos são necessários visando preencher as lacunas ainda existentes sobre aplicabilidade do modo Doppler.

PALAVRAS-CHAVE: Éguas. Exame complementar. Perfusão vascular. Sistema reprodutor.

MAIN APPLICATIONS OF DOPPLER ULTRASONOGRAPHY IN MARES REPRODUCTION – A REVIEW

ABSTRACT

Doppler-mode ultrasonography is an emerging technology in veterinary medicine, that aims to evaluate the vascular perfusion directly at the site of interest. It has been used for monitoring and evaluation of mare's reproductive tract vascularization. Furthermore, this assessment tool is capable of providing not only current structure information, as well as able to predict future conditions, like, follicle potential dominance and it's ovulatory capacity. Power flow mode allows evaluate small and tortuous vessels, wich are numerous in large animals reproductive tract, whereas spectral mode is considered inadequate due Doppler endometrium signals. For corpus luteum blood flow evaluation, Doppler mode can detect changes during estrous cycle and individual vascularization diferences. Corpus luteum examination of recipiente mares by Doppler ultrasonography, is a very importante tool, once it assists in selection of animals with progesterone serum profile suitable for development of embryo and maintenance of gestation. Another applicability of Doppler ultrasonography is the evaluation of anovulatory haemorrhagic follicles, which developed vascularized luteal tissue, as indicated through echotexture, color Doppler signals and production of progesterone levels, close to the normality. Therefore, this technique presentes numerous applications as a complementary method of diagnosis on mares reproductive tract. Despite existing studies, new researchs are needed aiming to fill remaing gaps on Doppler mode applicability.

KEYWORDS: Mares. Complementary exam. Vascular perfusion. Reproductive tract.

INTRODUÇÃO

A ultrassonografia transretal modo B (em escala de cinza) revolucionou o estudo de eventos reprodutivos em equinos, seja patológico ou fisiológico, bem como em outras espécies. A ultrassonografia modo Doppler tem sido utilizada para acompanhar e avaliar a vascularização do sistema reprodutor de fêmeas equinas. Trata-se de uma tecnologia emergente na Medicina Veterinária que visa análise da perfusão vascular diretamente no local de interesse. Com grande capacidade para aumentar o potencial diagnóstico e preditivo com diversas finalidades, seja a campo ou em pesquisa. Esta técnica fornece informações em tempo real sobre a arquitetura vascular e os aspectos hemodinâmicos dos vasos em diversos órgãos, possibilitando determinar a presença, a direção e o tipo de fluxo sanguíneo (CARVALHO et al., 2008).

Durante a última década, a ultrassonografia Doppler se tornou o método utilizado para análise do fluxo sanguíneo do sistema reprodutor de mulheres, sendo agora utilizada para análise na Medicina Veterinária. Entretanto, a capacidade como ferramenta diagnóstica da Ultrassonografia modo color Doppler ainda não está completamente elucidada, o que requer estudos detalhados para que possa ser considerada como tal. Dessa forma, estudos envolvendo sua aplicação estão sendo realizados visando ampliar o conhecimento fisiológico e em enfermidades do sistema reprodutor equino (SILVA et al., 2005; OUSEY et al., 2012; ALONSO et al., 2014).

Sendo assim, o objetivo da presente revisão de literatura é elucidar as

diferentes aplicações da ultrassonografia modo color Doppler no sistema reprodutor equino desenvolvidas até o momento.

DESENVOLVIMENTO

Vascularização do sistema reprodutor de éguas

A irrigação sanguínea ao útero ocorre principalmente pela artéria uterina e ocorre através do ligamento largo. A artéria uterina é um ramo da artéria ilíaca externa, que se originou na artéria aorta abdominal. O ramo uterino da artéria ovariana e o ramo uterino da artéria vaginal também contribuem para a vascularização do útero (Figura 1). Estas três artérias apresentam comunicação entre si e sua extensão varia entre os indivíduos (GINTHER, 2007a).

FIGURA 1. Vascularização do sistema reprodutivo da égua.
Fonte: Adaptado de Ginther (2007a).

A artéria ovariana se apresenta como um ramo da artéria aorta abdominal, enquanto a artéria vaginal se origina da artéria pudenda interna, um ramo da artéria ilíaca interna. O ramo uterino da artéria ovariana fornece suprimento sanguíneo para as extremidades dos cornos uterinos, enquanto o ramo uterino da artéria vaginal irriga a cérvix e corpo uterino (GINTHER, 2007a).

A artéria uterina, por sua vez, se divide em ramos cranial e caudal. O primeiro é menor e supre a tuba uterina e a porção cranial dos cornos uterinos, sofrendo anastomose com o ramo caudal da artéria uterina e o ramo uterino da artéria ovariana. O ramo caudal supre a porção caudal dos cornos uterinos e forma anastomoses com o ramo uterino da artéria vaginal. Os ramos uterinos cranial e caudal cursam ao longo da borda antimesometrial e originam numerosas ramificações arteriais tortuosas, que percorrem transversalmente ao longo das faces lateral e medial dos cornos uterinos (GINTHER, 2007a).

Ultrassonografia modo Doppler

Na medicina humana, a ultrassonografia modo Doppler vem sendo utilizada para monitorar gestação de alto risco, visto que alguns eventos, como a hipertensão arterial materna, as enterocolites fetais, o desenvolvimento intrauterino retardado e a morte perinatal, são correlacionados com aumento da resistência vascular fetal e uteroplacentária (BARBOSA; SILVA, 2012). Em éguas, foi utilizado visando avaliar o fluxo sanguíneo em folículos (ACOSTA et al., 2004). Em ambos os trabalhos, a ultrassonografia Doppler demonstrou evidente diferença na vascularização da parede de folículos ovulatórios em comparação a folículos atresícos. Esta ferramenta de análise é capaz de fornecer não apenas informações atuais da estrutura, bem como é capaz de prever condições futuras, como o potencial de dominância de um folículo ou ainda sua capacidade ovulatória (GINTHER, 2007a).

Esta técnica se baseia no efeito Doppler, que se caracteriza em alterações nas frequências das ondas emitidas ou refletidas por um objeto em movimento, em relação a um observador estático (GINTHER; UTT, 2004). Durante a ultrassonografia, as hemácias são consideradas os corpos refletivos em movimento e o transdutor corresponde ao observador. Deste modo, conforme a velocidade e a direção das hemácias se alteram, as imagens ultrassonográficas apresentam cores e tonalidades diferentes (VERMILLON, 1997). A ultrassonografia Doppler envolve duas modalidades, o modo color Doppler e o espectral, com diferentes avaliações da área de interesse.

No modo color Doppler, a imagem apresenta diferentes colorações que são caracterizadas como o fluxo em direção ao transdutor (tons de vermelho) e em sentido contrário (tons de azul), não sendo representações de fluxo sanguíneo venoso ou arterial. Esta modalidade pode ser utilizada para avaliar a hemodinâmica diretamente do tecido alvo, como endométrio, parede folicular e corpo lúteo (CL) (OUSEY et al., 2012; LEMES et al., 2015; ABDELNABY et al., 2016). O modo color Doppler é subdividido em dois modos distintos: Color-flow e Power-flow. O modo Color-flow clássico representa a perfusão vascular da estrutura em duas cores: vermelho e azul, que indicam o sentido das hemácias em relação ao transdutor. O vermelho corresponde ao fluxo sanguíneo que se desloca em direção ao transdutor, enquanto o azul indica afastamento. Tonalidades escuras e claras são velocidades lentas e rápidas, respectivamente (GINTHER; UTT, 2004; GINTHER, 2007a).

O modo Power-flow é uma inovação do Color-flow. Inicialmente utilizava-se uma escala graduada em uma única cor, o laranja, independente da direção do fluxo

sanguíneo. No entanto, equipamentos recentes de ultrassonografia Doppler têm apresentado o modo Power-flow também graduado em duas cores, de acordo com o sentido do fluxo. A intensidade da cor neste modo varia de acordo com a potência do sinal (GINTHER; UTT, 2004; GINTHER, 2007a). Este exame apresenta aumento na sensibilidade de três a cinco vezes em relação ao exame convencional, proporcionando assim a análise de vasos sanguíneos com diâmetro menor ou fluxo sanguíneo mais fraco, sendo as características de vascularização representadas em imagens coloridas de uma única coloração, independente da direção do fluxo sanguíneo (GINTHER; UTT, 2004).

Em relação aos exames utilizando o modo color Doppler, a vascularização pode ser graduada através da quantificação do número e tamanho dos pontos ou áreas coloridas (análise objetiva), bem como pode ser realizada a análise por escores (1 a 4, por exemplo, indicando vascularização mínima e máxima; análise subjetiva). A grande vantagem deste tipo de análise é a estimativa das características vasculares diretamente em uma estrutura, ou seja, a análise pode ser direcionada especificamente a uma área, possibilitando análise sistemática do local desejado, em vez de avaliar apenas um foco (por exemplo, apenas um vaso sanguíneo durante o espectral). Muitas vezes, devido ao movimento de vísceras e/ou do próprio animal, a manutenção do cursor nos exames em modo espectral é prejudicada, tornando sua realização mais difícil e demorada. As principais desvantagens deste tipo de exame são a utilização de imagens selecionadas e não o exame em tempo real (no caso da análise objetiva) ou a subjetividade na atribuição de escore entre avaliadores (análises subjetivas) (GINTHER; UTT, 2004; GINTHER, 2007a).

No modo espectral, as informações obtidas a partir do fluxo sanguíneo em função do tempo são transformadas em um gráfico, denominado espectro, onde o eixo horizontal representa o tempo e o eixo vertical a frequência de deslocamento Doppler. Neste gráfico, a linha de base horizontal representa o fluxo zero, o fluxo em direção ao transdutor é representado acima da linha de base e abaixo desta linha é demonstrado o fluxo em direção oposta (CARVALHO et al., 2008).

O modo espectral analisa quantitativamente o fluxo sanguíneo de um vaso específico, por meio da utilização de um cursor (gate), centralizado no lúmen da artéria escolhida, em uma imagem modo-B ou Doppler colorido. As alterações de frequência e amplitude são exibidas no gráfico, na forma de ondas, representando cada uma um ciclo cardíaco. É neste modo que são exibidos os valores das velocidades no pico sistólico (VPS), diastólica final (VDF) e velocidade máxima média (VMM), ao longo de um ciclo cardíaco, além dos índices Doppler de resistência (IR) e pulsatilidade (IP). Estes últimos são frequentemente utilizados por expressarem uma relação inversa com os índices perfusão vascular do tecido ou órgão suprido pela artéria avaliada (GINTHER, 2007a).

Para a aferição correta da velocidade do fluxo sanguíneo, deve-se buscar a angulação ideal entre a posição da probe e o respectivo vaso (ângulo de insonância). Alterações no ângulo de insonância podem ter efeitos drásticos sobre os valores absolutos das velocidades de fluxo sanguíneo de um vaso. Entretanto, as artérias que compõem o sistema reprodutor apresentam grande tortuosidade, fazendo com que a determinação deste ângulo para estes vasos seja praticamente impossível. Para contornar esta dificuldade, são utilizados para análise somente os índices Doppler (IR e IP), que não sofrem interferência do ângulo Doppler, sendo

assim indicados para a análise da hemodinâmica do útero e vasos anexos. O IR e IP arterial apresentam correlação inversa com a vascularização do tecido suprido pelo mesmo, ou seja, quanto menor IR e IP maior será a perfusão vascular naquele tecido (GINTHER, 2007a).

Com o Doppler pulsado ou espectral, como o transdutor torna-se mais perpendicular (90°) ao vaso sanguíneo escaneado, a amplitude das ondas obtidas diminuem. Para a obtenção dos índices do fluxo, o ângulo do feixe ultrassônico com o vaso deve ser inferior a 30° e o volume de amostra deve ser minimizado para que haja total inserção no vaso rastreado (DASCANIO, 2014).

O Power Doppler é semelhante ao Doppler colorido. Apresenta uma variação na coloração vermelha, maior descrição de pequenos vasos e menor taxa de fluxo do que o Doppler colorido. Portanto, fornece melhores informações da vascularização total. Entretanto, o Power Doppler não fornece informações a respeito de direção e velocidade do fluxo (DASCANIO, 2014).

Análise uterina

Segundo Ferreira et al. (2008), o modo Power-flow possibilita análise dos vasos de pequeno calibre e tortuosos, numerosos no sistema reprodutor de grandes animais. Já o modo espectral é considerado inadequado devido aos sinais de Doppler no endométrio (SILVA et al., 2005). Dessa forma, para obter índices de fluxo sanguíneo e de velocidades arterial do mesométrio têm sido utilizadas como um método indireto na análise de perfusão sanguínea e velocidade arterial do mesométrio (SILVA et al., 2005; GINTHER, 2007a; FERREIRA et al., 2008).

A pobre vascularização do sistema reprodutivo tem sido associada à subfertilidade ou infertilidade em éguas, podendo causar deficiências em sinalização hormonal, contratilidade uterina, placentação e interação materno-fetal (LEBLANC, 2010; OUSEY et al., 2012). Em mulheres, demonstrou-se que o baixo fluxo de sangue nas artérias uterina e ovariana no período luteal está associado à infertilidade (RAZIK et al., 2015).

Visando contornar a baixa perfusão sanguínea em órgãos do sistema reprodutor, alguns anticoagulantes e vasodilatadores têm sido utilizados em mulheres. Na Medicina Veterinária, Bailey et al. (2012) testaram o anticoagulante Pentoxifilina em éguas prenhes objetivando avaliar se ocorreria o aumento no fluxo sanguíneo uterino em éguas prenhes. No estudo destes autores foram utilizadas 13 éguas Pônei entre 18° e 190° dia de prenhez, sendo que em parte das éguas administrou-se por três dias a Pentoxifilina (17 mg/kg, via oral, a cada 12 horas). Ao restante das éguas administrou-se placebo somente. As medidas Doppler (índice de resistência, índice de pulsatilidade e velocidade máxima) foram obtidas das artérias uterinas direita e esquerda de cada égua por dois dias previamente ao tratamento e durante o período de tratamento. Esses parâmetros conhecidos foram então usados para calcular o Fluxo Sanguíneo Total na Artéria. A administração de Pentoxifilina não alterou os parâmetros do fluxo sanguíneo uterino comparado ao controle. Este fluxo aumentou ao longo de cinco dias de estudo, independente do tratamento, e foi maior em éguas com período gestacional mais adiantado. Diante disso, os autores concluíram que nenhum benefício imediato na administração da Pentoxifilina em éguas prenhes foi observado sobre o fluxo da artérias uterinas.

Zoller et al. (2016) utilizaram diferentes doses (30mg, 60mg e placebo) de Dinitrato de Isosorbida (ISDN) em fêmeas equinas prenhes e cíclicas. O ISDN possui

ação semelhante ao Óxido Nítrico (ON), potente relaxante da musculatura que compõe o endotélio vascular. A ultrassonografia modo Doppler colorido foi utilizada para determinação de IP e IR. A média de IP e IR combinados das artérias uterinas e ovarianas foram menores nas éguas em que se administraram 30 mg ou 60 mg de ISDN em comparação ao grupo em que se utilizaram o placebo. A resistência na artéria ovariana também foi menor em éguas prenhes tratadas com ISDN. O ISDN aumentou a perfusão uterina e a do ovário ipsilateral ao CL em éguas cíclicas. Em éguas prenhes, o ISDN (60 mg) aumentou somente o fluxo sanguíneo ovariano.

Ousey et al. (2012) desenvolveram experimento em que o fluxo sanguíneo da artéria uterina (AU) e outros índices Doppler (volume do fluxo sanguíneo total, velocidade do pico sistólico e índice de resistência) foram utilizados durante a gestação de éguas Puro Sangue Inglês para comparar o desenvolvimento placentário e fetal em éguas jovens e idosas. Não foi encontrada diferença nos índices avaliados. Éguas jovens e idosas apresentaram alterações hemodinâmicas de alta resistência transitória, baixo fluxo sanguíneo com baixa resistência, sistema de alto fluxo de acordo com o progresso da gestação e o momento de tais alterações associadas à angiogênese placentária e crescimento fetal exponencial durante o início e o final da gestação, respectivamente. Os autores afirmaram que a semelhança nos índices Doppler entre os grupos de éguas idosas e jovens reflete ausência de alterações patológicas severas na vascularização endometrial e tecido glandular das éguas idosas.

Segundo Esteller-Visco et al. (2015), lesões degenerativas do útero estão associadas a infertilidade ou subfertilidade. O processo degenerativo uterino, caracterizado pela intensificação das disfunções vasculares e aumento na severidade de fibrose endometrial e periglandular, se deve a grande distensão uterina no transcurso da gestação e regressão pós-parto. Entretanto, de acordo com Ferreira et al. (2008), éguas nulíparas apresentam elevação progressiva na incidência de cistos uterinos com o avançar da idade. Os cistos comprometem o contato entre o embrião e o endométrio após o cessar da mobilidade embrionária e, posteriormente, o adequado desenvolvimento do conceito. Éguas com cistos endometriais apresentam reduzida perfusão vascular uterina e uma correlação positiva entre o tamanho do cisto e a disfunção na hemodinâmica uterina (FERREIRA et al., 2008).

A Gonadotrofina Coriônica humana (hCG) pode influenciar as condições uterinas. Devido ao uso rotineiro na espécie equina como agente indutor de ovulação e apresentando resultados sobre as características uterinas de fêmeas equinas receptoras de embrião no dia da transferência, postulou-se que a vascularização uterina também pudesse ser influenciada pelo uso do hCG. Entretanto, verificou-se que não houve efeito sobre a vascularização uterina (ALONSO et al., 2014), bem como sobre os índices da artéria uterina (YILMAZ et al., 2014).

Para comparar a vascularização dos cornos uterinos direito e esquerdo de animais cíclicos e em gestações iniciais, Bollwein et al. (2003) notaram que nos dias 11 e 15 a 29 de gestação valores médios da velocidade do fluxo sanguíneo foram maior e IR menor em ambos os cornos uterinos das éguas prenhes em comparação as éguas cíclicas. Sendo assim, os autores afirmaram haver aumento no fluxo sanguíneo das artérias e que a redução do IR representou resistência reduzida ao fluxo sanguíneo na vascularização distal ao ponto de acesso durante a segunda

semana de gestação em comparação às éguas cíclicas. Posteriormente, Bollwein et al. (2004) investigaram o fluxo sanguíneo em ambas as artérias uterinas (ipsilateral e contralateral ao conceito) a cada quatro semanas desde a segunda semana até o momento do parto. Foi observada regressão altamente significativa ($P < 0,0001$) nas médias de IR de acordo com a semana de gestação, chegando a apresentar valores inferiores à metade dos registrados inicialmente ($0:89 \pm 0:01$ a $0:39 \pm 0:03$). O volume de fluxo sanguíneo (VOL) nos cornos uterinos ipsi e contralateral aumentou significativamente ($P < 0,0001$) de acordo com a semana a partir da metade da gestação, de 69 ± 37 a 27.467 ± 8851 ml/min. Os autores relataram ser adequado o uso da técnica de ultrassonografia Doppler para análise da perfusão uterina durante a gestação.

Entretanto, nos estudos de Bollwein et al. (2003; 2004) não foi determinada se a fixação embrionária ou a mudança na localização do conceito ocorreram em associação a alterações transitórias da perfusão vascular uterina. Silva et al. (2005) conduziram estudo que demonstraram que as alterações transitórias na perfusão vascular acompanham a mobilidade e a fixação da vesícula embrionária. Houve aumento gradual no volume do fluxo sanguíneo no corno uterino direito e esquerdo no período de migração do embrião pela luz do útero e maior velocidade no fluxo sanguíneo no corno uterino de fixação do conceito em relação ao lado oposto, a partir do dia da fixação embrionária. Os autores verificaram nas éguas prenhes que o corno uterino que continha o embrião apresentou maior vascularização entre os dias 10 e 12, sendo maior também do que no corno uterino contralateral nos dias 12 a 15.

Análise ovariana

Alterações decorrentes da idade ocorrem através de inúmeros mecanismos que afetam a eficiência reprodutiva, entre eles a qualidade oocitária. Altermatt et al. (2012) investigaram o efeito da idade sobre a vascularização ovariana e do folículo dominante, a correlação entre a vascularização folicular com a capacidade de desenvolvimento oocitário, bem como os efeitos dos tratamentos utilizando gonadotrofinas: Hormônio Luteinizante equino (eLH) e Hormônio Folículo Estimulante equino (eFSH). Verificou-se maior vascularização nos folículos de éguas idosas em relação a jovens, sem interação significativa entre eFSH ou eLH. O crescimento do folículo dominante não foi associado à vascularização, embora a idade avançada tenha apresentado tendência a efeito negativo em relação ao crescimento folicular. A vascularização dos folículos associados aos oócitos comparados com aqueles que não formaram blastocistos foi maior.

A ultrassonografia modo color Doppler foi utilizada por Acosta et al. (2004) para diferenciar futuros folículos dominantes anovulatórios e folículos dominantes ovulatórios através da análise do fluxo sanguíneo na parede folicular durante o período transicional. A área de fluxo médio foi menor ($P < 0,05$) no grupo de folículos anovulatórios com diâmetro dominante do que no grupo que atingiu a ovulação, o que permitiu aos autores distinguir entre o futuro folículo anovulatório e o dominante ovulatório com acurácia razoável.

Estudos sobre a vascularização ovariana e agentes indutores de ovulação ainda são escassos até os dias atuais. Gastal et al. (2006) realizaram comparação entre as imagens produzidas através da ultrassonografia modo B e modo color Doppler no folículo pré-ovulatório equino correlacionando a aproximação da

ovulação induzida (grupo tratado) ou não (grupo controle) com hCG para avaliar as alterações no fluxo sanguíneo e na ecotextura. Durante o período de 0 a 36 horas após o tratamento com hCG, a espessura e a ecogenicidade das células da granulosa aumentaram no grupo tratado e não no controle (ovulação natural). Durante o período de 36 a 12 horas precedente à ovulação, a camada da granulosa apresentou aumento significativo de pontos coloridos em ambos os grupos (hCG e controle). Os sinais Doppler colorido indicaram fluxo arterial decrescendo entre quatro à uma hora antes da ovulação enquanto as alterações ultrassonográficas da parede do folículo pré-ovulatório não estiveram associadas às alterações do estradiol.

A ultrassonografia Doppler foi utilizada durante tratamentos para indução de múltiplas ovulações. Witt et al. (2012) observaram que éguas cíclicas tratadas com eFSH não apresentaram diferença significativa no fluxo sanguíneo na artéria ovariana em relação ao grupo controle decorrente de haver um ou dois folículos em crescimento durante todo o período de análise. No entanto, houve um maior fluxo sanguíneo ovariano em éguas com mais de dois folículos, nos ciclos tratados com eFSH. Medeiros et al. (2017, *no prelo*) avaliaram o efeito do Extrato de Pituitária Equina (EPE) sobre a vascularização folicular e luteal em éguas. Entretanto, o EPE não apresentou diferença sobre o número de ovulações em relação ao grupo controle. Sendo assim, não foi observado efeito do EPE sobre a vascularização da parede folicular, bem como não houve diferença sobre a vascularização luteal.

Segundo Ayres e Mingoti (2012), a vascularização ovariana e seus fatores possuem papel fundamental em todo o processo de formação, manutenção e regressão das estruturas ovarianas, além de constituírem potenciais candidatos a explicar o desvio folicular e outras mudanças no ovário. Em éguas, a vascularização ovariana possibilita ainda identificar o futuro folículo dominante através da alteração da ecogenicidade, atribuída ao aumento da vascularização e da área de fluxo sanguíneo (ACOSTA et al., 2003), podendo-se distinguir o futuro folículo dominante dos folículos subordinados cerca de um dia antes do início do desvio do diâmetro.

Segundo Kelley et al. (2013), éguas tratadas com L-arginina, aminoácido capaz de aumentar a perfusão vascular do sistema reprodutivo, pelo período de 10 dias anteriores à ovulação, apresentaram maior crescimento folicular e perfusão vascular do folículo dominante, tendendo a ser maior quatro dias antes da ovulação.

Para análise do fluxo sanguíneo no CL, o modo Doppler consegue detectar alterações durante o ciclo estral e diferenças individuais na vascularização (BOLLWEIN et al., 2003). Em bovinos, a análise do corpo lúteo resulta em diagnósticos mais precoces e mais acurados de alterações da função luteal no período de reconhecimento materno da gestação (SIQUEIRA et al., 2013).

Ginther et al. (2007b) estudaram a relação temporal entre desenvolvimento/regressão do CL e alterações no fluxo sanguíneo em éguas. Buscou-se entender também se o aumento ou decréscimo no fluxo sanguíneo luteal precede a redução da concentração sérica de progesterona durante a luteólise. O percentual máximo de sinais de vascularização do CL ocorreu no dia 10 após ovulação, quando apresentou 77,3% de área luteal com fluxo sanguíneo, enquanto a progesterona atingiu a concentração sérica máxima no dia 8 (12,8 ng/ml), quando a área do CL e a progesterona plasmática decresceram paralelamente até o início da luteólise. Portanto, os autores afirmaram que não houve indicação que uma elevação ou redução no fluxo sanguíneo luteal ocorreu previamente à queda do

nível sérico de progesterona.

Outra aplicabilidade da ultrassonografia modo Doppler encontrada na literatura consiste na análise de folículos hemorrágicos anovulatórios (FHA). A incidência de FHAs está aproximadamente entre 5% a 20% dos ciclos estrais durante o início e o fim da estação reprodutiva, respectivamente. São estruturas mais comuns em éguas idosas (>20 anos), tendendo a repetir-se no indivíduo. Ginther et al. (2007c) compararam o dia da ovulação no grupo controle (ovulatório) e no primeiro dia (D0) da formação de FHA (indicado através do fluido folicular “enevado”). No dia -1 (dia anterior a ovulação), o futuro folículo ovulatório e o grupo FHA não diferiram em diâmetro folicular ou na frequência de escala de cinza ultrassônica. Entretanto, nos futuros FHAs, a maior porcentagem do contorno do folículo apresentou sinais Doppler colorido de fluxo sanguíneo. Nenhuma diferença foi observada entre ambos os grupos na concentração sistêmica de progesterona, LH e FSH nos dias -4 a 2. Entretanto, o estradiol estava elevado no grupo FHA no dia -3. A parede dos FHAs desenvolveram tecido luteal bem vascularizado como indicado através da ecotextura, sinais Doppler colorido e pela produção de progesterona em níveis próximos ao normal. Sendo assim, os autores afirmaram que os FHAs se formaram a partir de folículos viáveis.

No entanto, esta técnica permite estabelecer o momento mais indicado para iniciar a terapia para promover a regressão de FHAs. Fármacos indutores do estro ou de ovulação possuem pouca eficiência contra folículos hemorrágicos recentes. Porém, FHAs apresentam a tendência de se reorganizar de modo que possuam estruturas finais semelhantes ao CL maduro (Figura 2).

FIGURA 2. Folículos hemorrágicos anovulatórios (FHAs) visualizados através da ultrassonografia modo B (b e c) e Doppler (a e d). (a) Vascularização evidente na parede do folículo no dia que antecede a formação do FHA. (b) FHA recém desenvolvido apresentando formações trabeculares e diâmetro acima do normal, além de pontos ecóicos no fluido folicular. (c e d) FHA bem caracterizado morfológicas e ecogênicas e de Doppler similares à de corpo lúteo ativo e responsivo à agente luteolítico. Fonte: Ginther (2007a) citado por Ferreira (2013) (modificado).

FHAs apresentando sinais morfoecogênicos e vasculares similares às de CLs ativos estão aptos a responderem tratamentos com agentes luteolíticos (FERREIRA, 2013).

Aplicação do Doppler na endometrite equina

Bollwein et al. (2003) avaliaram o efeito durante três ciclos estrais da infusão intrauterina de diluidor de sêmen, plasma seminal ou sêmen através do fluxo sanguíneo uterino. Foi avaliada a velocidade máxima média (VMM). Entretanto, a infusão com diluidor não apresentou efeito no fluxo sanguíneo uterino. Após uma hora de infusão do plasma seminal ou sêmen houve aumento dos valores de VMM em ambas as artérias uterinas. Os autores concluíram que as alterações na perfusão endometrial após a infusão intrauterina pode ser associada à inflamação e componentes vasodilatadores presentes no plasma seminal.

Pereira et al. (2014) relataram caso utilizando a ultrassonografia modo Doppler como diagnóstico auxiliar da endometrite. Os autores afirmaram que esta técnica permitiu identificar a elevação da perfusão vascular através da detecção do aumento do número de pixels na região do útero, o que caracterizou maior perfusão sanguínea. Entretanto, estes valores não foram divulgados. As éguas avaliadas no relato de caso dos autores demonstraram alteração nos índices IP e IR, permitindo identificar elevação na velocidade e fluxo sanguíneo e, por consequência, redução da resistência da parede do vaso.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ultrassonografia modo Doppler apresenta inúmeras possibilidades de aplicação como método complementar de diagnóstico sobre o sistema reprodutor de éguas ou associado ao uso de biotecnologias da reprodução (inseminação artificial ou transferência de embriões) ou hormonioterapias (superovulatórias, por exemplo) como recurso preditivo do resultado a ser alcançado.

Apesar dos estudos já existentes, ainda é necessária a evolução sobre o uso da técnica nesta área, como em condições patológicas do sistema reprodutor, em terapias, em diferentes fases do ciclo estral equino, dentre outros. Ou ainda ampliar o conhecimento do real valor do seu uso associado às biotecnologias da reprodução.

Sendo assim, novos estudos são necessários visando preencher as lacunas ainda existentes sobre a aplicabilidade do modo Doppler.

REFERÊNCIAS

ABDELNABY, E.A.; EL-MAATY, A.M.A.; RAGAB, R.S.A.; SEIDA, A. A. Assessment of uterine vascular perfusion during the estrous cycle of mares in connection to circulating leptin and nitric oxide concentrations. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 39, p. 25–32, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2015.08.021>>. doi: 10.1016/j.jevs.2015.08.021.

ACOSTA, T.J.; BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Aberrant blood flow área and plasma gonadotropin concentrations during the development of dominant-sized transitional anovulatory follicles in mares. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 2, p. 637-642, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.028498>>. doi: 10.1095/biolreprod.104.028498.

ALONSO, M.A.; SILVA, L.A.; AFFONSO, F.J.; LEMES, K.M.; CELEGHINI, E.C.C.; et al. Effect of hCG application in three different moments of the estrous cycle on ovarian and uterine vascularization and serum progesterone concentration. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 1, p. 154, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2013.10.108>>. doi: 10.1016/j.jevs.2013.10.108.

ALTERMATT, J. L.; MAROLF, A. J.; WRIGLEY, R. H.; CARNEVALE, E. M. Effects of FSH and LH on ovarian and follicular blood flow, follicular growth and oocyte developmental competence in Young and old mares. **Animal Reproduction Science**, v.133, n.3-4, p.191-197, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.06.021>>. doi: 10.1016/j.anireprosci.2012.06.021.

AYRES, H.; MINGOTI, G. Z. Angiogênese, vascularização e uso do ultrassom Doppler colorido na análise de estruturas ovarianas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 36, n. 3. 2012. Disponível em: <[http://www.cbpa.org.br/pages/publicacoes/rbra/v36n3/p174-180%20\(RB313\).pdf](http://www.cbpa.org.br/pages/publicacoes/rbra/v36n3/p174-180%20(RB313).pdf)>.

BAILEY, C.S.; SPER, R.B.; SCHEWMAKER, J.L.; BUCHANAN, C.N.; BEACHLER, T.M.; POZOR, M.A. et al. Uterine artery blood flow remains unchanged in pregnant mares in response to short-term administration of pentoxifylline. **Theriogenology**, v. 77, n. 2, p. 430–436, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.08.018>>. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.08.018.

BARBOSA, C. C.; SILVA, L. D. M. Ultrassonografia Doppler para análise reprodutiva de fêmeas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, n. 4, p. 220-224, 2012. Disponível em: <[http://www.cbpa.org.br/pages/publicacoes/rbra/v36n4/p220-224%20\(RB341\).pdf](http://www.cbpa.org.br/pages/publicacoes/rbra/v36n4/p220-224%20(RB341).pdf)>.

BOLLWEIN, H.; MAYER, R.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during early pregnancy in mares. **Theriogenology**, v. 60, n. 4, p. 597–605, 2003. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00080-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00080-3)>. doi: 10.1016/S0093-691X(03)00080-3.

BOLLWEIN, H.; WEBER, F.; WOSCHÉE, I.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine and umbilical blood flow during pregnancy in mares. **Theriogenology**, v. 61, n. 2, p. 499–509, 2004. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00225-5](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00225-5)>. doi: 10.1016/S0093-691X(03)00225-5.

CARVALHO, C.F.; CHAMMAS, M.C.; CERRI, G.G. Princípios físicos do Doppler em ultrassonografia. **Ciência Rural**, v.38, n. 3, p.872-879, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.org/pdf/cr/v38n3/a47v38n3.pdf>>. Acesso em 08 de setembro de 2017.

DASCANIO, J.J. Doppler ultrasonography. In: DASCANIO, J.J.; MCCUE, P.M. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.14 n.26; p.1528 2017

Equine reproductive procedures. Aspen: Wiley Blackwell, 560p, cap. 63, p. 208, 2014.

ESTELLER-VICO, A.; LIU, I. K. M., VAUGHAN, B., STEFFEY, E. P.; BROSNAN, R. J. Effects of vascular elastosis on uterine blood flow and perfusion in anesthetized mares. **Theriogenology**, v. 83, n. 6, p. 988-994, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.11.032>>. doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.11.032.

FERREIRA, J.C.; GASTAL, E. L.; GINTHER, O.J. Uterine blood flow and perfusion in mares with uterine cysts: effect of the size of the cystic area and age. **Reproduction**, v. 135, n. 4, p. 541-550, 2008. Disponível em: <<http://www.reproduction-online.org/content/135/4/541.full.pdf+html>>. doi: 10.1530/REP-07-0447.

FERREIRA, J.C. Análise ultrassonográfica Doppler pré e pós-cobertura do sistema reprodutor de éguas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.37, n.2, p.108-114, 2013. Disponível em: <[http://www.cbpa.org.br/pages/publicacoes/rbra/v37n2/pag108-114%20\(RB449\).pdf](http://www.cbpa.org.br/pages/publicacoes/rbra/v37n2/pag108-114%20(RB449).pdf)>.

GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O.; GINTHER, O. J. Relationships of changes in B-mode echotexture and colour-Doppler signals in the wall of the preovulatory follicle to changes in systemic estradiol concentrations and the effects of human chorionic gonadotrophin in mares. **Reproduction Research**, v.131. p. 699-709, 2006. Disponível em: <<http://www.reproduction-online.org/content/131/4/699.full#sec-1>>. doi: 10.1530/rep.1.01011.

GINTHER, O.J; UTT, M.D. Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 24, p. 516-526, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2004.11.005>>. doi: 10.1016/j.jevs.2004.11.005.

GINTHER, O.J. Ultrasonic imaging and animal reproduction: Color-Doppler ultrasonography – Book 4. Madison: Equiservices Publishing, 258p, 2007a.
GINTHER, O. J.; GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O.; UTT, M. D.; BEG, M. A. Luteal blood flow and progesterone production in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 99, p. 213-220, 2007b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.05.018>>. doi: 10.1016/j.anireprosci.2006.05.018.

GINTHER, O.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A. Incidence, endocrinology, vascularity, and morphology of hemorrhagic anovulatory follicles in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 27, n. 3, p. 130-139, 2007c. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2007.01.009>>. doi: 10.1016/j.jevs.2007.01.009.

KELLEY, D.E.; WARREN, L.K.; MORTENSEN, C.J. Oral L-arginine supplementation impacts several reproductive parameters during the postpartum period in mares. **Animal reproduction science**, v. 138, n. 3, p. 233-240, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.05.009>>.

em: <<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.03.001>>.
10.1016/j.anireprosci.2013.03.001.

doi:

LEBLANC, M.M. Advances in the diagnosis and treatment of chronic infectious and post-mating-induced endometritis in the mare. **Reproduction of Domestic Animals**, v.45, n. 2, p. 21–27, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0531.2010.01634.x>>. doi: 10.1111/j.1439-0531.2010.01634.x

LEMES, K. M.; SILVA, L. A.; CELEGHINI, E.C.C.; ALONSO, M.A.; PUGLIESI, G.; et al. Follicular development and ovarian blood flow in mares with early or late ovulation postpartum. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 27, n. 1, p. 178-179, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1071/RDv27n1Ab175>>. doi: 10.1071/RDv27n1Ab175.

MEDEIROS, M.C.R.; FARINASSO, A.; NERY, I.H.A.V.; SOUZA, H.M.; VASCONCELOS, J.L.A. et al. Estudo da vascularização folicular e do corpo lúteo de éguas cíclicas tratadas com extrato de pituitária equina utilizando ultrassom Doppler colorido. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Online), 2017. No prelo.

OUSEY, J.C.; KÖLLING, M.; NEWTON, R.; WRIGHT, M.; ALLEN, W. R. Uterine haemodynamics in young and aged pregnant mares measured using Doppler ultrasonography. **Equine Veterinary Journal**, v. 44, supl. 41, p. 15-21, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.2042-3306.2011.00446.x>>. doi: 10.1111/j.2042-3306.2011.00446.x.

PEREIRA, R.; SILVA, E.; IGNÁCIO, F.; LACERDA, T.; MEIRA, C.; et al. Utilização de ultrassonografia modo doppler como diagnóstico complementar da endometrite em éguas: relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v.23, n.1, p. 1-14, 2014. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/rcemv/article/view/27695/29083>>.

RAZIK, M.A.; FARAG, M.A.H.; SHETA, M. Uterine and ovarian arteries blood flow during the mid luteal phase in women with unexplained infertility. **Middle East Fertility Society Journal**, v. 20, p. 209–212, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mefs.2014.05.004>>. doi: 10.1016/j.mefs.2014.05.004.

SILVA, L.A.; GASTAL, E.L.; BEG, M.A.; GINTHER, O.J. Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. **Biology Reproduction**, v. 72, p. 755–761, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.036384>>. doi: 10.1095/biolreprod.104.036384.

SIQUEIRA, L.G.B.; AREAS, V.S.; GHETTI, A.M.; FONSECA, J.F.; PALHAO, M.P.; et al. Color Doppler flow imaging for the early detection of nonpregnant cattle at 20 days after timed artificial insemination. **Journal of Dairy Science**, v.96, p. 6461-6472, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.3168/jds.2013-6814>>. doi: 10.3168/jds.2013-6814.

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

WITT, M. C.; BOLLWEIN, H.; PROBST, J.; BAACKMANN, C.; SQUIRES, E.L.; et al. Doppler sonography of the uterine and ovarian arteries during a superovulatory program in horses. **Theriogenology**, v. 77, n. 7, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.11.005>>. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.11.005.

YILMAZ, O.T.; GUNDUZ, M.C.; DAL, G.E.; KURBANB, I.; ERZENGINA, O.M.; et al. Is uterine blood flow influenced by hCG and mare age? **Animal Reproduction Science**, v.151, p.182–185, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.10.021>>. doi: 10.1016/j.anireprosci.2014.10.021.

ZOLLER, D.; LÜTTGENAU, J.; STEFFEN, S.; BOLLWEIN, H. The effect of isosorbide dinitrate on uterine and ovarian blood flow in cycling and early pregnant mares: a pilot study. **Theriogenology**, v. 85, p. 1562–1567, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.01.009>>. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.01.009.