

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE FORMIGA – UNIFOR-MG

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ANA FLÁVIA FARIA OLIVEIRA

**DETERMINAÇÃO DO PERÍODO FÉRTIL EM CADELAS POR MEIO DE
CITOLOGIA VAGINAL E DOSAGEM SÉRICA DE PROGESTERONA**

FORMIGA – MG

2018

ANA FLÁVIA FARIA OLIVEIRA

DETERMINAÇÃO DO PERÍODO FÉRTIL EM CADELAS POR MEIO DE
CITOLOGIA VAGINAL E DOSAGEM SÉRICA DE PROGESTERONA

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Medicina
Veterinária do UNIFOR-MG como requisito
parcial para obtenção do título de bacharel
em Medicina Veterinária.

Orientadora: Rebeca Marques Mascarenhas

FORMIGA – MG

2018

Ana Flávia Faria Oliveira

DETERMINAÇÃO DO PERÍODO FÉRTIL EM CADELAS POR MEIO DE
CITOLOGIA VAGINAL E DOSAGEM SÉRICA DE PROGESTERONA

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Curso de Medicina
Veterinária do UNIFOR – MG, como
requisito parcial para obtenção do título de
bacharel em Medicina Veterinária.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Rebeca Marques Mascarenhas
Orientadora

Prof. Dr. Dênio Garcia Silva de Oliveira
UNIFOR-MG

Prof. Ms. Diogo Joffily
UNIFOR-MG

Formiga, 11 de julho de 2018.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UNIFOR-MG

- O48 Oliveira, Ana Flávia Faria.
Determinação do período fértil em cadelas por meio de citologia vaginal e dosagem sérica de progesterona / Ana Flávia Faria Oliveira. – 2018.
41 f.
- Orientadora: Rebeca Marques Mascarenhas.
Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Centro Universitário de Formiga - UNIFOR, Formiga, 2018.
1. Reprodução. 2. Diagnóstico. 3. Ovulação. I. Título.
- CDD 636.08926

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus pela vida e por todas as graças recebidas.

Agradeço a minha orientadora Prof^aDr^a. Rebeca Marques Mascarenhas pelo suporte, paciência e amizade.

Aos meus pais pelo apoio, incentivo e por estarem ao meu lado em todos os momentos. Ao meu namorado pelo carinho e companheirismo.

Por fim, agradeço aos meus amigos e a todos que acreditaram em mim e me apoiaram durante essa trajetória.

RESUMO

Uma das causas mais comuns de falhas em programas de reprodução é a cobertura da cadela no período indevido e determinar o momento da ovulação é necessário para a obtenção de resultados satisfatórios. O presente trabalho objetivou avaliar a correlação entre sinais clínicos, citologia vaginal e dosagem sérica de progesterona no diagnóstico de ovulação em cadelas. Foram avaliados dados de 36 cadelas levadas para a clínica para realizar inseminação artificial. Observou-se que o intervalo de tempo entre o início dos sinais clínicos de proestro e a detecção das fases de estro e diestro pela citologia vaginal foi semelhante, a “contagem de dias” após início dos sinais clínicos de cio não é um parâmetro preciso para classificação das fases do ciclo estral. A amplitude de variação entre o início dos sinais clínicos de proestro e a ovulação foi grande. Existe uma baixa correlação entre os resultados da citologia vaginal e dosagem de progesterona, especialmente quando a progesterona encontra-se abaixo de 2ng/mL e acima de 10ng/mL. Nas faixas de progesterona correspondentes ao pico de LH e a ovulação, a citologia apontou sempre estro, entretanto, as citologias de estro não foram exclusivas das faixas de progesterona correspondentes ao pico de LH e a ovulação. Nota-se que a progesterona tem uma melhor precisão na determinação dos eventos ovarianos (pico de LH e ovulação), quando comparada a citologia vaginal. Concluímos que existe uma ampla variação entre a data início dos sinais clínicos, o resultado da citologia vaginal e a dosagem sérica de progesterona. Todos os parâmetros podem ser utilizados para detecção do período fértil, entretanto a data de início dos sinais clínicos de proestro, o resultado da citologia vaginal e a dosagem sérica de progesterona, tem, nesta ordem, precisão crescente e um melhor resultado pode ser obtido quando associados os três parâmetros.

Palavras-chave: reprodução, diagnóstico, ovulação, cadela.

ABSTRACT

One of the most common causes of failures in breeding programs is to mate the bitch in the undue period, so determining the timing of ovulation is necessary to obtain satisfactory results. The present work aimed to evaluate the correlation between clinical signs, vaginal cytology and serum progesterone dosage in the diagnosis of ovulation in bitches. Data were collected from 36 bitches taken to the clinic to perform artificial insemination. He observed that the time interval between the beginning of the clinical signs of proestrus and the detection of estrus and diestrus phases by vaginal cytology was similar, and "counting days" after beginning the clinical signs of heat is not a precise parameter to classify the phases of the estrous cycle. The variation between the onset of clinical signs of proestrus and ovulation was large. There is a low correlation between the results of vaginal cytology and progesterone dosage, especially when progesterone is below 2 ng / mL and above 10 ng / mL. In the progesterone range corresponding to the LH peak and ovulation, the cytology always indicated estrus, however the estrous cytologies were not exclusive of those ranges. Thus, it is noted that progesterone has a better accuracy in determining ovarian events (peak LH and ovulation) when compared to vaginal cytology. We conclude that there is a wide variation between the date of the clinical signs, vaginal cytology and serum progesterone dosage. All parameters can be used to detect the fertile period, however, date of the clinical signs of proestrus, vaginal cytology and the serum progesterone dosage, have, in this order, increasing precision and better results can be obtained when the three parameters are combined.

Key words: reproduction, diagnosis, ovulation, bitch.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

QUADRO 1 – Duração, principais sinais de comportamento, alterações encontradas no exame ginecológico, eventos hormonais e mudanças fisiológicas durante as fases do ciclo estral de cadelas.....	20
QUADRO 2 – Relação entre as concentrações plasmáticas de P ₄ e a evolução da fase folicular (pró-estro e estro) na cadela.....	24
FIGURA 1 – Lâmina da citologia vaginal de uma cadela em proestro.....	22
FIGURA 2 – Lâmina da citologia vaginal de uma cadela em estro.....	22
FIGURA 3 – Lâmina da citologia vaginal de uma cadela em diestro.....	23
GRÁFICO 1 – Variação das concentrações plasmáticas de estrógenos, LH e P ₄ durante as fases de pró-estro e estro na cadela.....	15
GRÁFICO 2 – Concentrações de LH, progesterona e estrógeno e período de ocorrência dos eventos ovarianos (ovulação e maturação dos ovócitos) a partir do pico de LH.....	17
GRÁFICO 3 – Porcentagem de cadelas com citologia de proestro, estro e diestro durante a fase anterior ao pico de LH (P ₄ <2ng/mL), durante o pico de LH (P ₄ 2-3ng/mL), durante a ovulação (P ₄ 4-10ng/mL) e após a ovulação (P ₄ >10ng/mL).....	30
GRÁFICO 4 – Variação da P ₄ sérica em citologia de estro.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Intervalo médio de tempo em dias entre o início dos sinais de proestro e a detecção das fases de proestro, estro e diestro pela citologia vaginal; valor médio e a amplitude de variação da progesterona durante estas fases; intervalo médio e amplitude de variação de tempo em dias entre o início dos sinais de proestro e a ovulação27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CL – Corpo Lúteo

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

IA – Inseminação Artificial

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LH – Hormônio Luteinizante

ng/mL – Nanograma por Mililitro

P₄ – Progesterona

pg/mL – Picograma por Mililitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1 Ciclo estral da cadela.....	14
2.2 Fases do ciclo estral.....	14
2.2.1 Proestro.....	14
2.2.2 Estro.....	16
2.2.3 Diestro.....	17
2.2.4 Anestro.....	19
2.3 Citologia Vaginal.....	21
2.4 Dosagem Hormonal.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	27
5 CONCLUSÃO.....	33
REFERÊNCIAS.....	34
ANEXO A – Dados do controle zootécnico da Clínica Provitta.....	39
ANEXO B – Autorização para uso de dados da Clínica Provitta.....	41

1 INTRODUÇÃO

Os animais de companhia encontram-se mais próximos ao ser humano, sendo eles importantes constituintes dentro do contexto social (SANTOS e RAMIREZ-GALVEZ 2012). No ranking mundial, o Brasil é o quarto país com o maior número de animais de estimação e o segundo com o maior número de cães (IBGE, 2013). Atualmente os animais são considerados membros da família, isso fez com que os cuidados e investimentos dos donos com seus animais aumentassem (DA SILVA MAZON; GARCIA DE MOURA 2017). O mercado pet é um dos negócios que mais cresce no Brasil, mesmo em tempos de crise o setor resiste e prevê aumentos no faturamento (ABINPET, 2016).

Recentemente, aumentou-se o interesse pela espécie canina e pela criação de cães, sendo necessário estudar e conhecer melhor suas especificidades reprodutivas. Ao estudar sobre a reprodução da espécie canina, os pesquisadores partiram de dados já obtidos em outras espécies, entretanto, características da reprodução canina são únicas entre os animais de interesse zootécnico. A duração das fases do ciclo estral e a idade da puberdade varia entre indivíduos e raças e, a endocrinologia do ciclo estral é bastante particular no cão, dificultando a padronização dos eventos reprodutivos e o estabelecimento de biotecnologias de reprodução assistida (CONCANNON e VERSTEGEN, 2005).

Uma das causas mais comuns de falhas em programas de reprodução é a cobertura da cadela no período indevido. Tal fato pode ser justificado pelo breve período em que a cadela encontra-se fértil dentro do ciclo estral. O longo prazo de receptividade sexual e uma maior sobrevivência dos espermatozoides no trato reprodutivo da fêmea possibilita o acasalamento antes que a ovulação aconteça, este pode ser outro causador de falhas em programas de reprodução, visto que se o sêmen for de baixa qualidade ou a quantidade de cobertura for restrita pode não haver sucesso na fecundação (GOODMAN, 2001). Desta forma, determinar o momento da ovulação é necessário para a obtenção de resultados satisfatórios nas técnicas de reprodução (REYNAUD et al., 2005).

Usa-se com frequência a citologia vaginal no monitoramento do ciclo estral da cadela, esse método é satisfatório e bastante importante porém não

permite confirmar o dia exato da ovulação. A dosagem sérica de progesterona (P₄) confirma o exame citológico, determinando o momento ideal para a monta ou inseminação artificial (IA) (ALVES; MATEUS; LOPES DA COSTA, 2002).

Visto que é muito importante acompanhar o ciclo estral da cadela para definir o melhor momento da monta programada ou inseminação artificial, o objetivo do presente trabalho é avaliar a correlação entre sinais clínicos, citologia vaginal e dosagem sérica de progesterona no diagnóstico de ovulação em cadelas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Ciclo estral da cadela

Entende-se por ciclo estral, mudanças cíclicas no aparelho reprodutivo, que ocorrem entre uma ovulação e a ovulação seguinte, nas fêmeas após a puberdade (MCGEE e HSUEH, 2000). Características como raça e escore corporal são importantes fatores que influenciam a idade em que as cadelas se tornam púberes (OLSON et al., 1984).

As funções do aparelho reprodutor feminino assim como a liberação de hormônios ovarianos são controladas por eventos endócrinos e neuroendócrinos e o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal regula a constância das fases do ciclo estral (CONCANNON, 1993). O hormônio folículo-estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH) são secretados pelos gonadotrofos (células da adenohipófise) e desempenham um papel essencial na indução da foliculogênese e ovulação. O hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), liberado pelo hipotálamo é o principal regulador da secreção de FSH e LH (TANI et al., 1996).

A cadela é monoéstrica, considerada não sazonal e os intervalos entre os estros variam de cinco a doze meses dependendo da raça e do indivíduo em questão (FARSTAD, 2000). O efeito da gestação sobre o intervalo entre estros em cadelas é conflitante, Silva (2016) relatou que todos os indivíduos avaliados apresentaram intervalo entre estros maiores quando gestantes, assim como Bouchard et al. (1991) que observou um aumento de três semanas no intervalo em animais gestantes. Já Concannon (2011) defende a ideia de que os intervalos entre estros não são influenciados pela ocorrência de gestação. O intervalo entre estros pode não ser constante ao longo da vida reprodutiva de um indivíduo, assim não se deve utilizar a data do último estro na determinação precisa da data do próximo (BOUCHARD et al., 1991).

O ciclo estral da cadela é composto pelas fases de proestro, estro, diestro e anestro, sendo esta a única espécie doméstica na qual o anestro faz parte obrigatória de todos os ciclos estrais (CONCANNON, 2011). Ao decorrer das fases do ciclo, variações significativas são observadas tanto nas concentrações

hormonais quanto na citologia do epitélio vaginal. Essas alterações podem ser clinicamente usadas para acompanhamento das fases do ciclo estral e dos eventos ovarianos (CONCANNON et al., 2009).

2.2 Fases do ciclo estral

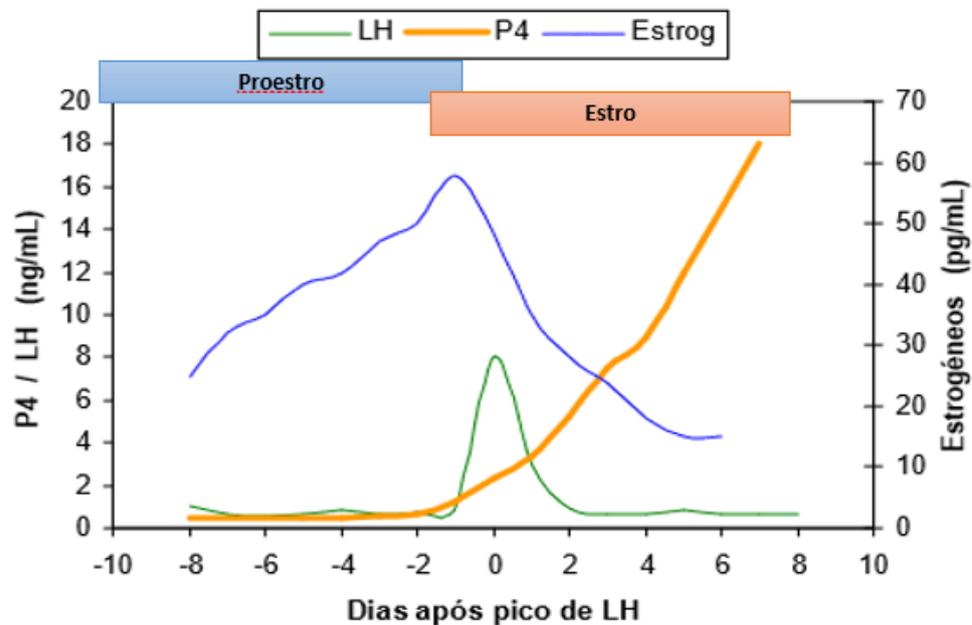
2.2.1 Proestro

O proestro tem duração média de nove dias, havendo variações de três a dezessete dias. Apesar da cadela não estar receptiva à copula nesta fase, o macho é atraído. Pode ser notada uma descarga vaginal sanguinolenta, desencadeada pela diapedese eritrocitária e ruptura de vasos sub-epiteliais endometriais. Observa-se edema e hipertrofia vulvar, dilatação da cérvix e espessamento do endométrio com atividade glandular aumentada (HOFFMANN; RIESENBECK; KLEIN, 1996).

Os folículos ovarianos em dormência desenvolvem-se sob ação do Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e ocorre a produção de estrógeno pelas células foliculares. O desencadeamento dos comportamentos e sinais característicos de proestro se dão pela presença desse hormônio (STANKIEWICZ; BLASZCZYK; UDALA, 2009).

O proestro tem como característica o acelerado desenvolvimento folicular seguido do aumento nas concentrações do estradiol produzido pelos folículos. O GRAF. 1 (CONCANNON; HANSEL; VISEK, 1975) mostra, ao final da fase de proestro, um aumento abrupto do Hormônio Luteinizante (LH). Exclusivamente nos canídeos, as células da parede folicular iniciam a secreção de progesterona antes mesmo da ovulação, levando a uma precoce luteinização dos folículos (CONCANNON; MCCANN; TEMPLE, 1989).

Gráfico 1 – Variação das concentrações plasmáticas de estrogéneos, LH e P₄ durante as fases de pró-estro e estro na cadela.



Fonte: Adaptado de Concannon, Hansel e Visek, 1975.

O aumento das concentrações séricas de estrógeno, ultrapassando 25 pg/mL, levam a alterações clínicas como secreção vaginal sanguinolenta e edema de vulva. O pico máximo é atingido quando as concentrações chegam próximo de 60 a 70 pg/ml, 24 a 48 horas antes do fim do proestro. (VALTONEN e JALKANEN,1993)

Durante o proestro as concentrações séricas de progesterona estão em níveis basais, porém, ao fim dessa fase as concentrações começam a se elevar devido a luteinização das células da parede dos folículos maduros, que iniciam a produção de progesterona. O aumento da concentração de progesterona tem relação com o pico pré-ovulatório de LH que inicia no último dia do proestro e dura de um a quatro dias (CONCCANON, 2011).

2.2.2 Estro

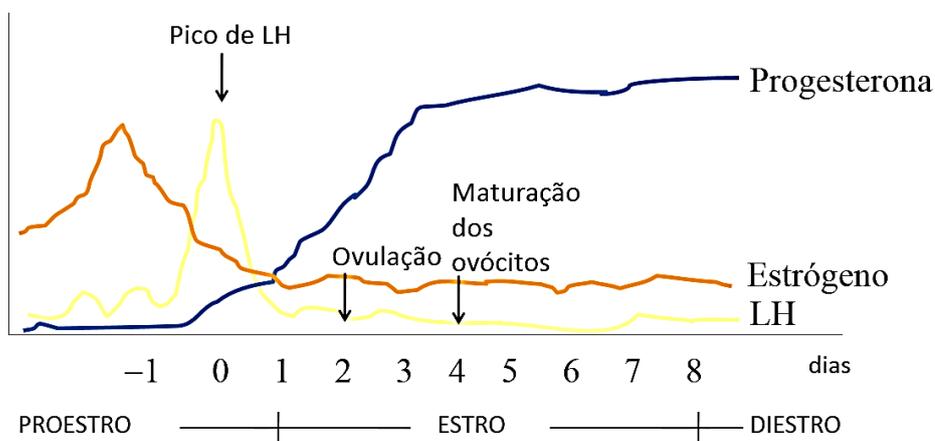
O estro, entendido como período de receptividade sexual onde a fêmea aceita o macho e possibilita a monta, dura em torno de nove dias, com variações individuais entre três a vinte e um dias. A vulva ainda se encontra edemaciada, porém, o muco vaginal passa a ser transparente ou amarelo-palha (CONCANNON; MCCANN; TEMPLE, 1989). Entretanto, observaram em alguns estudos que a recusa ao macho não deve ser interpretada como o fim do estro, visto que a fêmea pode recusá-lo num dia e permitir a cópula no dia seguinte (JOCHLE e ANDERSEN, 1977).

A partir de concentrações de pico de estrógeno, no proestro final, as concentrações séricas seguem diminuindo para valores médios de 10 a 20 pg/mL no estro. Os níveis de progesterona aumentam no fim do proestro, variam de 1 a 3 ng/mL no período do pico pré-ovulatório de LH. O comportamento de estro na cadela ocorre em resposta ao declínio nos níveis de estrógeno e é facilitado sinergicamente pelo rápido aumento da progesterona (LUZ et al., 2006; CONCANNON, 2011). O feedback positivo sobre o hipotálamo e hipófise é estimulado pela queda de estrógeno e elevação de progesterona, resultando na onda pré-ovulatória de LH e também na secreção de FSH (REYNAUD et al., 2005). Ao estudar as concentrações de estrógeno e P₄ séricos em cadelas ao decorrer das fases do ciclo estral, notou-se que há um aumento na concentração de progesterona um dia após o surgimento do pico de estrógeno na fase folicular (WEILEMANN et al., 1993).

A ovulação na cadela acontece entre o segundo e terceiro dia do estro, 24 a 72 horas após a onda de LH (TSUTSUI, 1989). Na maioria das cadelas, o processo da ovulação completa-se em 24 horas, sendo que em alguns casos se completa em 12 horas (FONTBONNE e MALANDAIN, 2006). A cadela ovula ovócitos primários que não podem ser fecundados imediatamente após a sua liberação, estes são imaturos e estão no início da primeira divisão meiótica, em forma de vesícula germinativa. A maturação completa dos ovócitos nas cadelas se dá 48 a 72 horas após a ovulação (GRAF. 2), quando atingem a porção média das tubas uterinas (CONCANNON; MCCANN; TEMPLE, 1989; REYNAUD et al., 2005).

O ovócito pode ser fecundado a partir do momento em que se torna maduro e sua sobrevivência no trato reprodutivo é muito curta, varia de 24 a 48 horas (CONCANNON e BATTISTA, 1989). Sendo assim, o período ideal para a fecundação varia de três a quatro dias após o pico de LH. Não há confirmação de gestação proveniente de coberturas ocorridas nove a dez dias após a onda de LH (HOFFMANN; RIESENBECK; KLEIN, 1996).

Gráfico 2 – Concentrações de LH, progesterona e estrógeno e período de ocorrência dos eventos ovarianos (ovulação e maturação dos ovócitos) a partir do pico de LH.



2.2.3 Diestro

A duração do diestro varia de dois a três meses. Na avaliação clínica observa-se a diminuição gradual do edema de vulva, o corrimento vaginal pode estar presente em uma quantidade limitada e a cadela não permite a cópula (JOCHLE e ANDERSEN, 1977).

Devido a altas concentrações de progesterona, o útero se adequa para a gestação, mantendo a vascularização e uma estrutura glandular. Nesta fase, as cadelas que não foram fecundadas podem exibir sinais de pseudogestação como o aumento de volume da glândula mamária, adoção de objetos, preparação de ninho, além de outras mudanças no comportamento (NELSON e COUTO, 2015).

O hormônio dominante no diestro é a progesterona, o pico máximo que corresponde a 15 a 90 ng/mL é atingido de quinze a vinte e um dias após o início dessa fase, podendo persistir por até duas semanas. A progesterona sérica se encontra alta tanto em diestros gestacionais quanto não gestacionais, devido a isso, a dosagem de progesterona para diagnosticar gestação não é eficiente. No final da fase de diestro a progesterona encontra-se em níveis basais (CONCANNON et al. 1978; CONCANNON, 1993; HOFFMANN et al., 1999). Os níveis de estrógeno aumentam de forma lenta durante a fase do diestro em cadelas gestantes e não gestantes, porém há uma diferença ao final do diestro de gestantes onde os níveis desse hormônio sobem rapidamente alguns dias antes do parto. (LUZ et al., 2006)

Corpo lúteo (CL) corresponde a uma glândula endócrina de caráter transitório, proveniente do acelerado crescimento, diferenciação e luteinização das células da granulosa e da teca, tecido subsecivo do folículo ovulatório. O principal objetivo do CL é produzir progesterona (DAVIS e RUEDA, 2002). Células luteais esteroideogênicas e não-esteroideogênicas, dentre elas células endoteliais, fibroblastos e células do sistema imunológico, compõem o corpo lúteo. O desenvolvimento do CL está relacionado com o aumento abrupto de vasos sanguíneos no local. A secreção de progesterona pelas células esteroideogênicas luteais dão início ao estado de quiescência uterina e constituição glandular, condicionando o trato reprodutivo para uma possível gestação (WEBB; WOAD; ARMSTRONG, 2002).

O tempo de duração do diestro e a concentração de progesterona, fundamentada na função lútea é semelhante em fêmeas caninas não-gestantes e gestantes, indicando que a manutenção fisiológica do CL não ocorre devido a presença de fetos. Do mesmo modo, o útero ou prostaglandinas uterinas não são incumbidos pela manutenção fisiológica ou regressão do CL (CONCANNON, 2011). Na espécie canina as luteotrofinas são a prolactina e o LH, originados na hipófise (OKKENS et al., 1990).

A progesterona exerce diversas funções, dentre as principais estão o fechamento da cérvix, aumento da atividade das glândulas endometriais, proporciona um ambiente auspicioso a uma possível gestação e também

minimiza a resposta inflamatória e a motilidade miométrica (HAGMAN et al., 2006).

Ao iniciar a regressão do corpo lúteo nota-se uma queda nos níveis de progesterona. Em fêmeas não gestantes a diminuição é gradativa. Na presença de gestação, a regressão do CL é associada à cascata de eventos do parto que inicia com liberação de cortisol fetal e de prostaglandina pela progenitora, embora não se saiba o mecanismo exato. O aumento das concentrações de prostaglandina, aproximadamente 24 horas antes do parto, em conjunto com a alta de estrógeno faz com que ocorra contrações uterinas desencadeando o parto. (CONCANNON et al., 2011)

2.2.4 Anestro

O anestro é caracterizado pela inatividade sexual, quiescência relativa dos ovários e involução uterina. A transição da fase lútea para o anestro é gradual. O anestro se estende do final do diestro até o próximo proestro e sua duração pode variar de oitenta a duzentos e quarenta dias. Diferenças na duração do anestro entre raças e entre linhagens dentro de uma mesma raça indicam uma base genética para a variação nos intervalos entre estros. Fatores ambientais também podem afetar esse intervalo, uma cadela em anestro convivendo com uma cadela em estro pode entrar na fase de pró-estro algumas semanas antes do estimado, ciclos estrais sincrônicos são comuns em cadelas alojadas juntas (OKKENS e KOOISTRA, 2006).

A progesterona encontra-se em níveis baixos $<0,1\text{ng/mL}$ e o estrógeno varia de 5 a 20pg/mL , FSH fica em torno de 300ng/mL e o LH de $8,5\text{ ng/mL}$ (OLSON et al., 1982). Alguns estudos mostram que durante o anestro há liberação de gonadotrofinas compatíveis com o requerido para o recrutamento folicular, porém os ovários não estão totalmente responsivos às mesmas. A prolactina, entre outros fatores ainda em estudo, inibe o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal levando a uma baixa responsividade dos ovários às gonadotrofinas (JEFFCOATE, 1993).

O início da foliculogênese e término do anestro são acompanhados de aumento nos níveis circulantes de FSH no fim do anestro, (MONNIAUX et al.,

1997), maior liberação de GnRH pelo hipotálamo e uma maior sensibilidade da hipófise e ovários aos hormônios reprodutivos em geral (BEIJERINK et al. 2004).

Quadro 1 – Duração, principais sinais de comportamento, alterações encontradas no exame ginecológico, eventos hormonais e mudanças fisiológicas durante as fases do ciclo estral de cadelas.

	PROESTRO	ESTRO	DIESTRO	ANESTRO
COMPORTAMENTO	Atrai o macho; não receptiva.	Aceita a cópula.	-	-
EXAME GINECOLÓGICO	Edema vulvar e descarga vaginal sanguinolenta.	Edema vulvar e muco vaginal transparente ou amarelo-palha	-	-
HORMONAL	Elevação de estrógeno; pulsos de FSH e LH. Pico de LH na transição para o estro.	Elevação de P ₄ .	P ₄ elevada.	Níveis baixos de P ₄ (<0,1ng/mL)
FISIOLOGIA	Desenvolvimento folicular.	Ovulação (ovócitos primários) e maturação dos ovócitos.	Presença de corpos lúteos.	Involução uterina e reparação endometrial.
DURAÇÃO	3 a 17 dias (média 9 dias)	3 a 21 dias (média 9 dias)	60 a 90 dias	80 a 240 dias

2.3 Citologia Vaginal

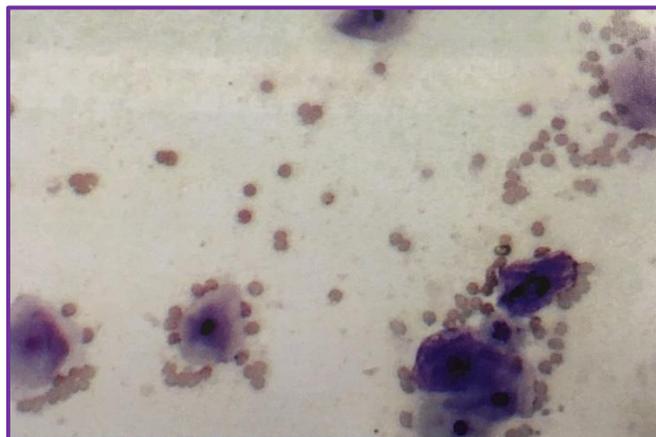
A citologia vaginal é um meio de diagnóstico muito utilizado na reprodução de cadelas, com o intuito de verificar as alterações causadas no epitélio devido às oscilações nos níveis hormonais. É um método bastante eficiente, prático e de baixo custo (BENETTI; TONIOLLO; OLIVEIRA, 2004).

Ao realizar os esfregaços vaginais é possível avaliar a proporção dos tipos de células epiteliais ali presentes, presença de leucócitos, eritrócitos e secreções e, com isso indicar a dominância hormonal, tornando possível a estimativa do período fértil (CHAVES et al., 2004) bem como o melhor momento para a monta programada ou inseminação artificial (SCHUTTE, 1967).

O epitélio vaginal é formado por camadas celulares diferentes, sensíveis a ação proliferativa do estrogênio. Diferentes tipos de células epiteliais são encontrados em esfregaços vaginais realizados durante o ciclo estral, sendo elas denominadas células para-basais, células intermediárias e células superficiais. As células para-basais possuem formato arredondado, o núcleo é redondo e a proporção nucleocitoplasmática é mais alta comparado com as outras células em questão, em relação ao tamanho, as células para-basais são as menores. As células intermediárias também possuem o núcleo redondo, são maiores que as para-basais e as extremidades das células intermediárias são arredondadas. As células superficiais são as maiores entre as três, suas bordas são angulares e podem conter pregas. Os núcleos são tênues, picnóticos ou ausentes (BACHA; BACHA, 2003).

As características citológicas do proestro (FIG. 1) consistem na presença de hemácias, neutrófilos, muitas células para-basais, intermediárias e superficiais. A presença de células sanguíneas ao final dessa fase é variável, os neutrófilos vão diminuindo, observa-se um maior número de células intermediárias (SILVA; SILVA; CARDOSO, 2002).

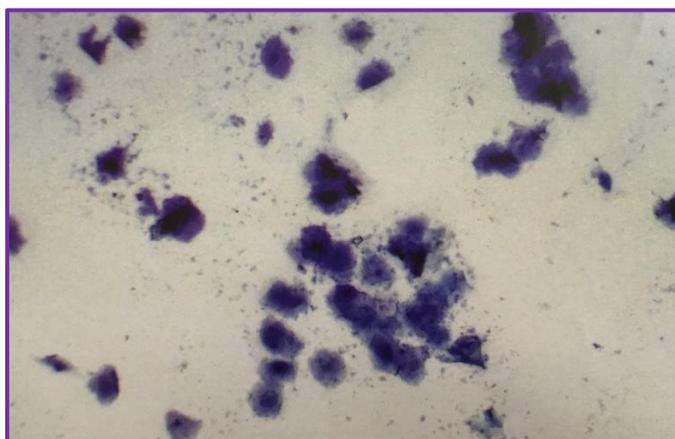
Figura 1 – Lâmina da citologia vaginal
de uma cadela em proestro



Fonte: Sorribas (2006)

Na fase de estro (FIG. 2), há uma predominância de células epiteliais superficiais queratinizadas. Hemácias e neutrófilos geralmente não estão presentes no esfregaço, quando encontrados estes estão em pequenas quantidades (VANNUCCHI; SATZINGER; SANTOS, 1997).

Figura 2 – Lâmina da citologia vaginal
de uma cadela em estro.

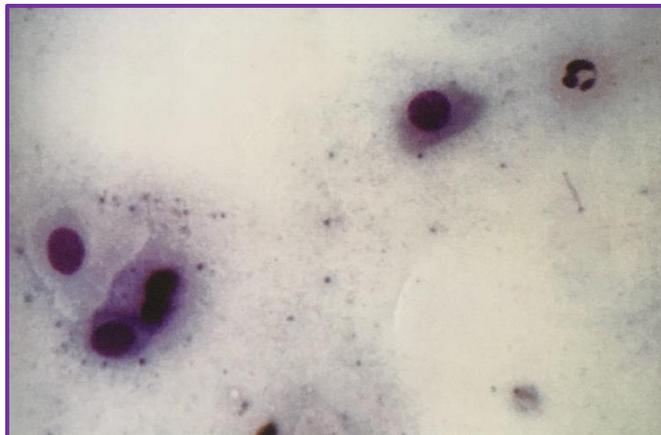


Fonte: Sorribas (2006)

A mudança no aspecto citológico de estro para o diestro ocorre de forma abrupta em 24 a 48 horas. Na FIG. 3 observa-se que há um declínio na quantidade de células superficiais, de 90% no estro para 20% no diestro. As intermediárias e as para-basais atingem até metade das células totais. Os

neutrófilos estão em grande quantidade, alguns desses fazendo fagocitose das células (SILVA; SILVA; CARDOSO, 2002).

Figura 3 – Lâmina da citologia vaginal de uma cadela em diestro.



Fonte: Sorribas (2006)

No anestro pode ou não ser observada a presença de leucócitos. Células intermediárias e para-basais são dominantes nessa fase (VANNUCCHI; SATZINGER; SANTOS, 1997).

2.4 Dosagem hormonal

A dosagem de progesterona plasmática é bastante utilizada no acompanhamento do ciclo estral de cadelas por ser um método muito eficaz na determinação da ovulação (CONCANNON; MCCANN; TEMPLE, 1989). Outros hormônios como o estrógeno e o LH podem ser mensurados para o mesmo fim, porém não são utilizados rotineiramente (ENGLAND; ALLEN; PORTER, 1989).

O LH é o hormônio diretamente relacionado com a ovulação, entretanto, é um hormônio glicoproteico, para determinação de níveis séricos confiáveis seriam necessárias coletas de sangue e avaliações frequentes, o que torna o método pouco prático e oneroso. A progesterona, por ser um hormônio esteroide, é mais fácil de ser medida no soro, e seus níveis tem boa correlação tanto com o pico de LH quanto com a ovulação (LEVY e FONTBONNE, 2007).

Segundo Blendinger (2007), na fase de proestro a progesterona permanece nos níveis basais (<1ng/mL) até o início do pico de LH, quando os

níveis séricos sobem para valores entre 2 e 3 ng/mL. Durante a fase folicular, que corresponde ao fim proestro e início do estro, o aumento nos níveis de progesterona é constante e na ovulação atinge valores entre 4 a 10 ng/mL, marcando o início da fase lútea do ciclo estral (QUADRO 2).

A elevação significativa nas concentrações séricas de progesterona (> 2ng/mL) indica o pico pré ovulatório de LH, conseqüentemente a ovulação ocorrerá 48 horas após esse pico (SILVA; CARDOSO, SILVA, 2003). No momento da ovulação, os níveis séricos de P₄ são muito próximos entre raças, sendo assim, a dosagem desse hormônio é um dos meios mais preciso na identificação do período fértil de cadelas (MARSELOO et al. 2004).

No diestro os níveis de progesterona aumentam constantemente até um pico de 15-80 ng/mL antes de diminuir progressivamente no diestro tardio. Geralmente, uma vez que o nível de progesterona começa a subir, ele dobra a cada 2 dias. As concentrações máximas de P₄ são atingidas entre 20 e 30 dias após o fim do estro, esteja a cadela prenha ou não. A partir daí, ocorre um declínio gradual com níveis basais em torno de sessenta a setenta dias após a ovulação (BLENDINGER, 2007)

Nenhum valor exato de P₄ se correlaciona com qualquer estágio específico do ciclo, os níveis oscilam entre animais e até mesmo entre ciclos de uma mesma fêmea. A progesterona varia de 0,8 a 3,0 ng/mL no ponto de pico de LH, de 1,0 a 8,0 ng/mL na ovulação e de 4,0 a 20,0 ng/mL durante o período fértil (BLENDINGER, 2007).

Quadro 2 – Relação entre as concentrações plasmáticas de P₄ e a evolução da fase folicular (pró-estro e estro) na cadela.

P₄ (ng/mL)	Significado
<1.0	Anestro ou próestro
1.0 – 1.9	Dia anterior ao pico de LH
2.0 – 2.9	Pico de LH (2 dias antes da ovulação)
3.0 – 3.9	1 dia antes da ovulação
4.0 – 10	Ovulação
>10.0	Após a ovulação

Fonte: Adaptado de Root Kustritz, 2001.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado utilizando dados fornecidos pela responsável da Clínica Provitta, localizada em Belo Horizonte. Os dados analisados são de 08 de março de 2018 a 18 de abril de 2018 (ANEXO A).

Foram avaliados dados de 36 ciclos estrais de cadelas distintas, das raças Buldogue Francês, Buldogue Inglês, American Bully, Boxer, Pug, Kuvz, Pastor de Shetland e Goldem Retriever, com idade entre 1,5 e 7 anos, levadas espontaneamente para a clínica para realizar inseminação artificial.

O protocolo utilizado pela clínica preconiza que as cadelas sejam levadas para exame entre o 7º e 9º dia após o início dos sinais de proestro. Na clínica é feito o exame de citologia vaginal segundo Da Costa, Léga e Neves (2009).

- O local a ser colhido o material é limpo com solução fisiológica e o método de coleta utilizado é o Swab.
- O Swab é introduzido na vulva inicialmente em um ângulo de 45º e posteriormente 180º para obtenção de material da região mais cranial da vagina.
- O material coletado é fixado em lâmina e corado com corante do tipo Panótico Rápido.
- Após a secagem, a lâmina é submetida à microscopia óptica com aumento de 20 e 40x para avaliação da porcentagem de células parabasais, intermediárias e superficiais.

Quando a citologia vaginal e o exame clínico indicam que o animal está na fase de estro é feita a dosagem sérica de progesterona pelo método da quimioluminescência em laboratório particular terceirizado.

Conforme o resultado da dosagem sérica de progesterona, pode ser marcado um retorno para repetição dos exames quando a progesterona se encontra abaixo de 4ng/mL ou podem ser agendadas as inseminações quando a progesterona sérica se encontra na faixa entre 4 e 10ng/mL, considerada como a faixa de ovulação.

O protocolo de inseminação seguido pela clínica preconiza uma inseminação dois dias após a ovulação, estimada pela progesterona entre 4 e

10ng/mL e outra, dois dias após a primeira. Após 30 dias da segunda IA, é feito um exame ultrassonográfico para diagnóstico de gestação. Para as cadelas, que já no primeiro exame apresentam progesterona sérica maior que 10ng/mL, com citologia vaginal de estro, o protocolo de inseminação é iniciado imediatamente.

Para o presente trabalho foram avaliados os seguintes dados:

- Data de início dos sinais de proestro (relatado pelo proprietário)
- Classificação da fase do ciclo estral segundo a citologia vaginal durante o exame na clínica
- Dosagem de progesterona sérica
- Confirmação de gestação das cadelas inseminadas

A partir destes dados avaliou-se:

- Intervalo médio de tempo em dias entre o início dos sinais de proestro e a detecção das fases de proestro, estro e diestro pela citologia vaginal;
- O valor médio e amplitude de variação da dosagem de progesterona sérica durante as fases de proestro, estro ou diestro, classificado pela citologia vaginal;
- Média e amplitude de variação do intervalo de tempo entre o início dos sinais de proestro, e a ovulação;
- Porcentagem de cadelas com citologia de proestro, estro e diestro durante a fase anterior ao pico de LH ($P_4 < 2\text{ng/mL}$), durante o pico de LH ($P_4 2\text{-}3\text{ng/mL}$), durante a ovulação ($P_4 4\text{-}10\text{ng/mL}$) e após a ovulação ($P_4 > 10\text{ng/mL}$)
- Taxa de prenhez com base no exame ultrassonográfico aos 30 dias

Os dados foram tabelados utilizando-se o programa Excel® 2006. A análise estatística foi feita no programa BioEstat 5.0 utilizando-se o ANOVA seguida de teste T de Student com nível de significância $p < 0,05$.

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

Nas cadelas em que a citologia vaginal indicou fase de proestro, o intervalo de tempo entre o início dos sinais de proestro e a avaliação clínica variou de 4 a 7 dias, sendo a média de dias significativamente menor quando comparada às avaliações onde a citologia indicou fases de estro e diestro (TAB.1). Não houve variação significativa no intervalo de tempo entre o início dos sinais de proestro e a avaliação clínica quando a citologia foi classificada como estro e diestro, variando no estro de 5 a 15 dias e no diestro de 7 a 20 dias.

Tabela 1 - Intervalo médio de tempo em dias entre o início dos sinais de proestro e a detecção das fases de proestro, estro e diestro pela citologia vaginal; valor médio e a amplitude de variação da progesterona durante estas fases; intervalo médio e amplitude de variação de tempo em dias entre o início dos sinais de proestro e a ovulação.

Fase do ciclo estral classificada pela citologia vaginal	Proestro	Estro	Diestro
Intervalo médio de tempo em dias entre o início dos sinais de proestro e a avaliação clínica	5,80 ^a (\pm 1,16)	9,00 ^b (\pm 2,85)	10,50 ^b (\pm 5,20)
Dosagem sérica média de progesterona	0,9 ^a (\pm 0,72)	8,0 ^b (\pm 7,49)	43,0 ^c (\pm 8.27)
Amplitude de variação da dosagem de progesterona sérica	0,05 a 1,88ng/mL	0,47 a 28,43ng/MI	32,71 a 51,39 ng/mL
Intervalo médio e amplitude de variação de tempo em dias entre o início dos sinais de proestro e a ovulação	-	9,42 (\pm 2,1) dias 7 a 15 dias	-

Nota: Médias assinaladas com letras distintas na mesma linha diferem entre si com $p > 0,05$.

Wright (1991) acompanhou um grupo de cadelas e ao início dos sinais de proestro começou a monitorar os eventos reprodutivos com o intuito de relacioná-los com o primeiro dia do aparecimento de sinais de cio. O período de receptividade sexual característico do estro variou no grupo do 7^o ao 16^o dia após o aparecimento dos sinais clínicos de proestro.

Em outro experimento descrito por Johnston, Kustritz e Olson, (2001) um grupo de 50 cadelas da raça Beagle foi acompanhado avaliando a data do início dos sinais clínicos de proestro e o momento da ovulação. Viu-se que a ovulação, e também a fase de estro, pode iniciar-se tão cedo quanto o 7^o dia de cio ou tão tarde quanto o 22^o dia, com uma concentração de 50% das cadelas ovulando entre o 10^o e o 12^o dia do cio.

Observando resultados do trabalho de Wright (1991), nota-se que a citologia vaginal indicou a fase de estro entre o 6^o o 17^o dia após o aparecimento dos sinais clínicos de proestro e entre o 15^o dia e o 23^o dia indicou o início da fase de diestro.

Verificamos que o intervalo de tempo entre o início dos sinais clínicos de proestro e a detecção das fases de estro e diestro pela citologia vaginal foi semelhante, indicando que a “contagem de dias” após início dos sinais clínicos de proestro não é um parâmetro preciso para classificação das fases do ciclo estral. Segundo England e Concannon (2002), os sinais clínicos típicos de cio como aspecto e quantidade secreção vaginal, aceitação do macho para a cópula e vulva edemaciada, embora amplamente utilizados por proprietários e até veterinários, são parâmetros considerados insuficientes para determinar o dia da ovulação e o período fértil.

A ovulação ocorreu em média 9,42 ($\pm 2,1$) dias após o início dos sinais clínicos de proestro, com variação de 7 a 15 dias (Tabela 1). De acordo com Lévy e Fontbonne (2007), há variações significativas entre cadelas no dia em que ocorre a ovulação dentro do período de estro. Algumas cadelas podem ovular no início do cio, aproximadamente no 5^o dia e outras podem ser mais tardias e ovular no 30^o dia após o aparecimento dos sinais clínicos de proestro. A inconstância no dia da ovulação também é notável em uma mesma cadela em ciclos distintos.

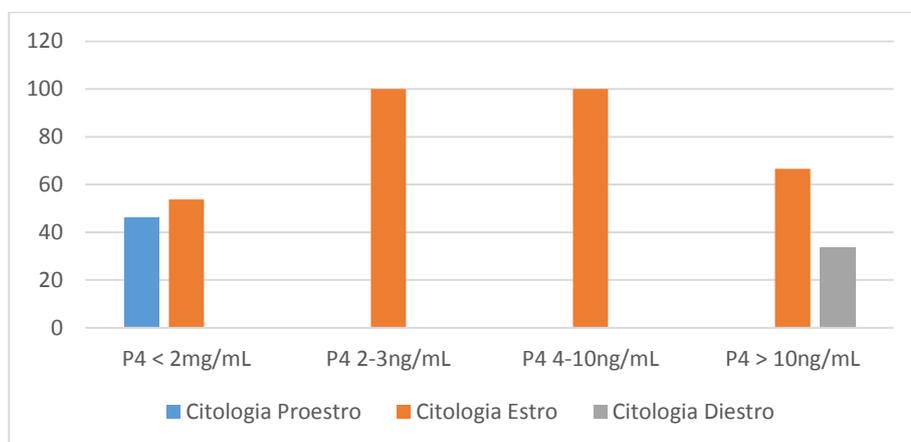
Wright (1991), baseado na dosagem de progesterona, observou-se que a ocorrência da ovulação variou do 8º ao 20º dia após o aparecimento dos sinais clínicos de proestro. Os níveis de progesterona sérica permaneceram na faixa de ovulação de 2 a 6 dias aproximadamente. Os níveis de progesterona alcançaram o valor entre 2 e 4ng/mL (pico de LH) entre o 6º e o 18º dia após o aparecimento dos sinais clínicos de proestro. As dosagens de LH possibilitaram observar que o aumento sérico desse hormônio ocorreu entre o 7º e o 18º dia após o aparecimento dos sinais clínicos de proestro, confirmando a correlação entre esta faixa de P₄ (2 a 4ng/mL) com o pico de LH. A duração do pico de LH variou de dois a três dias

Os dados encontrados mostram a inconstância da ovulação em relação aos dias de sinais clínicos de proestro. Sendo assim, correlacionar o início das mudanças físicas e comportamentais típicas de cio e o tempo provável de ovulação não é, por si só, uma estratégia eficaz no controle reprodutivo de cadelas.

Os níveis séricos de progesterona variaram de 0,05 a 1,88ng/mL nas cadelas em proestro, com média de 0,91ng/mL, nas cadelas em estro a variação foi de 0,47 a 28,93ng/mL, com média de 8,2ng/mL e nas cadelas em diestro a variação foi de 32,71 a 51,39ng/mL, com média de 43,49ng/mL, sendo todos as médias significativamente diferentes entre si (TAB. 1).

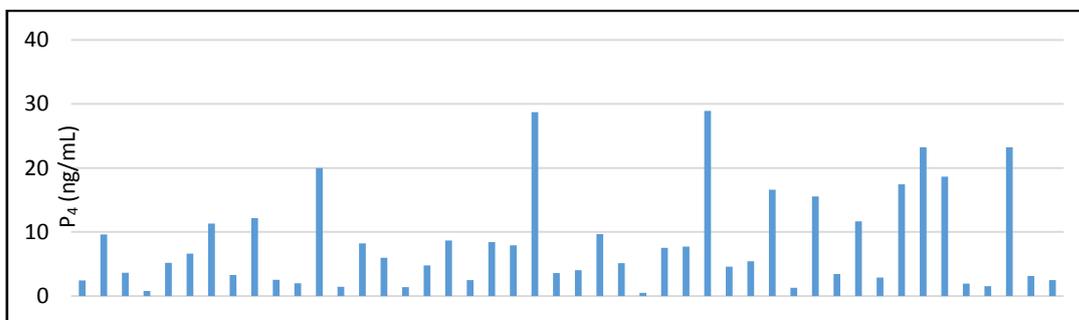
Das cadelas com progesterona <2mg/ml (fase de proestro pré-pico de LH) 46,2% apresentaram citologia de proestro e 53,8% de estro. Das cadelas com progesterona entre 2 e 3 mg/ml (fase do pico de LH) todas apresentaram citologia de estro, da mesma forma que as cadelas com progesterona entre 4-10 (fase de ovulação). Das cadelas com progesterona acima de 10ng/mL 66,6% apresentaram citologia de estro e 33,4% de diestro (GRAF. 3).

Gráfico 3 - Porcentagem de cadelas com citologia de proestro, estro e diestro durante a fase anterior ao pico de LH ($P_4 < 2\text{ng/mL}$), durante o pico de LH ($P_4 2\text{-}3\text{ng/mL}$), durante a ovulação ($P_4 4\text{-}10\text{ng/mL}$) e após a ovulação ($P_4 > 10\text{ng/mL}$)



Dos 46 resultados em que a citologia indicou fase de estro, 39% apresentaram dosagem sérica de progesterona abaixo de 4ng/mL, o que indica que ainda não ocorreu a ovulação e 41% acima de 4ng/mL indicando que está em andamento ou já houve a ovulação (GRAF. 4)

Gráfico 4 - Variação da P₄ sérica em citologia de estro.



Wright (1990) relatou em seu trabalho algumas fêmeas que apresentaram características reprodutivas peculiares. Ao avaliar a progesterona sérica notou-se que uma cadela ovulou no período em que a citologia vaginal indicava proestro. Já outra fêmea ovulou 15 dias após o exame citológico indicar estro. Observou-se ainda um animal cujo os resultados citológicos eram normais (correspondia a fase do ciclo estral) porém os níveis séricos de progesterona não aumentaram como o esperado, indicando falha na ovulação.

Linde e Karlsson (1984) monitoraram um grupo de cadelas e a partir do primeiro dia em que apareceu a secreção vaginal sanguinolenta. Realizou diariamente exames de citologia vaginal e dosagem sérica de estrógeno e progesterona. De 24aios acompanhados, o pico de estrógeno ocorreu entre três a seis dias antes do estro (indicado pela citologia vaginal) e notou-se uma queda de estrógeno quando a citologia vaginal indicou estro. Em 70,8% das cadelas a progesterona sérica alcançou a faixa ovulatória (4 a 10ng/mL) quando a citologia vaginal indicou estro e em 25% antes da citologia vaginal indicar estro. O restante das cadelas apresentou os níveis ovulatórios quando a citologia vaginal indicou diestro.

Em um estudo feito por Bouchard et al. (1991), observa-se uma grande variação entre as características da citologia vaginal e a data da ovulação. Os resultados mostraram que as cadelas ovularam entre o 5º e o 9º dia após a citologia vaginal apresentar 80% das células queratinizadas (fim da fase de proestro) e entre o 5º e 8º dia antes da citologia vaginal indicar o início do diestro (queda de 20% nas células queratinizadas).

Muitos pesquisadores acompanham as fases do ciclo estral da cadela usando apenas a citologia vaginal. Wright (1990) em seu trabalho, realizou inseminação artificial em cadelas baseando-se em resultados da citologia vaginal e depois realizou uma contraprova dosando a progesterona sérica para comparar os resultados. Quando a citologia vaginal indicava estro a IA era realizada e repetida de 2 a 4 dias até a citologia vaginal indicar a fase de diestro. Em seus resultados ele observou que existe correlação entre a data ideal estimada da cruzada pela citologia vaginal e a indicada pelos níveis séricos de progesterona.

A citologia vaginal mostra a fase do ciclo estral em que a cadela se encontra, porém, não indica o momento exato da ovulação. Realizar os exames de citologia vaginal frequentemente desde o início do proestro, pode auxiliar na determinação da onda pré-ovulatória de LH. A presença de 80% de células superficiais no exame citológico indica uma altíssima concentração de estrógeno e em aproximadamente 48 horas ocorrerá pico de LH. (ENGLAND e CONCANNON, 2002). É comum a combinação de citologia vaginal com dosagens séricas de progesterona afim de reduzir o custo da detecção do

período fértil em cadelas, pois observando a citologia, menos testes de P₄ são necessários (LEVY e FONTBONNE, 2007).

Observamos uma baixa correlação entre os resultados da citologia vaginal e dosagem de progesterona, especialmente quando a progesterona encontra-se abaixo de 2ng/mL e acima de 10ng/mL. Nas faixas de progesterona correspondentes ao pico de LH e a ovulação, a citologia apontou sempre estro, entretanto, as citologias de estro não foram exclusivas destas faixas. Assim, nota-se que a progesterona tem uma melhor precisão na determinação dos eventos ovarianos (pico de LH e ovulação), quando comparada a citologia vaginal.

Com o protocolo apresentado, que preconiza acompanhamento das cadelas por citologia vaginal a partir do 7º dia do início dos sinais clínicos de proestro, exames de progesterona quando a citologia indicar estro e inseminação do 2º ao 5º dia após a ovulação (estimada com base na dosagem de progesterona) obteve-se uma taxa de fertilidade de 87%, com base na avaliação ultrassonográfica aos 30 dias, realizando de 2 a 3 inseminações por ciclo.

A dosagem sérica de P₄ é um método mais eficiente comparado com a citologia devido à alta correlação das concentrações progesterona com as concentrações de LH. Sendo assim, a quantidade de progesterona no sangue indica a data da ovulação e permite estabelecer o melhor momento para a IA ou monta (SILVA; CARDOSO, SILVA, 2003)

5 CONCLUSÃO

Na cadela, existe uma ampla variação entre a data de início dos sinais clínicos de proestro, o resultado da citologia vaginal e a dosagem sérica de progesterona. Todos parâmetros podem ser utilizados para detecção do período fértil, entretanto a data de início dos sinais clínicos de proestro, o resultado da citologia vaginal e a dosagem sérica de progesterona, tem, nesta ordem, precisão crescente e um melhor resultado pode ser obtido quando associados os três parâmetros.

REFERÊNCIAS

- ABINPET. **Valor do mercado pet na América Latina sobe 40% entre 2010 e 2015**. 2016. Disponível em: <<http://abinpet.org.br/site/>> Acesso em: 28 de mar. 2018.
- ALVES, I.; MATEUS, M.; LOPES DA COSTA, L. Monitorização do ciclo éstrico da cadela para inseminação artificial ou cruzamento. In: CONGRESSO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS. Lisboa: **CIISA/Faculdade de Medicina Veterinária**, 2002. p. 177-182.
- BACHA, W. J.; BACHA, L. M. Sistema reprodutor feminino. In:_____. **Atlas colorido de histologia veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2003. cap. 18.
- BEIJERINK, N. J. et al. Serotonin antagonist-induced lowering of prolactin secretion does not affect the pattern of pulsatile secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in the bitch. **Reproduction**, v. 128, n. 2, p. 181-188, 2004.
- BENETTI, A. H.; TONIOLLO, G. H.; OLIVEIRA, J. A. Concentrações séricas de progesterona, 17 b-estradiol e cortisol durante o final do próestro, estro e diestro gestacional em cadelas. **Ciência Rural**, p. 471-478, 2004.
- BITTENCOURT, R. F. et al. Eficácia da inseminação vaginal profunda em cadelas monitoradas por citologia vaginal. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 12, n. 3, p. 60-60, 2015.
- BLENDINGER, K. Physiology and pathology of the estrous cycle of the bitch. In: 56° Congresso Internazionale Multisala SCIVAC. Rimini, Italia: **Italian Companion Animal Veterinary Association**. 2007. p. 73-77.
- BOUCHARD, G. et al. Seasonality and variability of the interestrous interval in the bitch. **Theriogenology**, v. 36, n. 1, p. 41-50, 1991.
- CHAVES, A.R. et al. Exame citológico esfoliativo na prevenção de lesões ginecológicas de cadelas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. V. 28, n. 5, p. 282-286. 2004.
- CHIRINÉA, V. H. **Inseminação artificial com sêmen congelado em cães**. 2008. 85 p. Dissertação (Doutorado em Medicina Veterinária)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.
- CONCANNON, P.W.; BATTISTA, M. Canine semen freezing and artificial insemination. In: KIRK R.W. (Ed.). **Current veterinary therapy**. Philadelphia: WB Saunders, 1989. p.1247-1259.
- CONCANNON PW; VERSTEGEN J. Some uniuques aspects of canine and feline female reproduction important in veterinary pratice. In: World Small Animal Veterinary Association, 30, 2005, México. **Proceedings** ... México: WSAVA, 2005. p.1-8

CONCANNON, P. W. Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, v. 47, p. 3-27, 1993.

CONCANNON, P. W. et al. Endocrine control of ovarian function in dogs and other carnivores. **Anim Reprod**, v. 6, n. 1, p. 172-193, 2009.

CONCANNON, P. W. et al. Parturition and lactation in the bitch: serum progesterone, cortisol and prolactin. **Biology of reproduction**, v. 19, n. 5, p. 1113-1118, 1978.

CONCANNON, P. W. Canine semen freezing and artificial insemination. **Current veterinary therapy, small animal practice**, p. 1247-1259, 1989.

CONCANNON, P. W.; HANSEL, W.; VISEK, W. J. The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH and progesterone. **Biology of Reproduction**, v. 13, n. 1, p. 112-121, 1975.

CONCANNON, P. W.; MCCANN, J. P.; TEMPLE, M. Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, v. 39, p. 3-25, 1989.

CONCANNON, P. W. Reproductive cycles of the domestic bitch. **Animal reproduction science**, v. 124, n. 3-4, p. 200-210, 2011.

DA COSTA, E. C. F.; LÉGA, E.; NEVES, L. Estimativa da fase do ciclo estral por citologia vaginal em cadelas (*canis familiaris*, linnaeus, 1758) da região de ituverava-SP. **Nucleus Animalium**, v. 1, n. 2, 2009.

DA SILVA MAZON, M.; GARCIA DE MOURA, W. Cachorros e humanos: mercado de rações pet em perspectiva sociológica. **Civitas-Revista de Ciências Sociais**, v. 17, n. 1, 2017.

DAVIS, J.S.; RUEDA, B. R. The corpus luteum: an ovarian structure with maternal instincts and suicidal tendencies. **Front Biosci**, v. 7, p. d1949-d1978, 2002.

DE MELO EVANGELISTA, L. S.; DE SOUSA FILHO, M. A. C.; DE SOUZA, J. A. T. Inseminação Artificial Intravaginal em cadela da raça Dogo Argentino utilizando sêmen refrigerado: Relato de caso. **PUBVET**, v. 10, p. 190-270, 2015.

ENGLAND, G. C.; ALLEN, W. E.; PORTER, D. J. A comparison of radioimmunoassay with quantitative and qualitative enzyme-linked immunoassay for plasma progesterone detection in bitches. **The Veterinary record**, v. 125, n. 5, p. 107-108, 1989.

ENGLAND, G.; CONCANNON, P. W. Determination of the optimal breeding time in the bitch: basic considerations. **Recent advances in small animal reproduction**, n. A1231, p. 0602, 2002.

FARSTAD, W. Current state in biotechnology in canine and feline reproduction. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 375-387, 2000.

FONTBONNE, A.; MALANDAIN, E. Ovarian ultrasonography and follow-up of estrus in the bitch and queen. **Waltham Focus**, v. 16, p. 22-29, 2006.

GOODMAN, M. Ovulation timing: Concepts and controversies. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 31, n. 2, p. 219-235, 2001.

HAGMAN, R. et al. Differentiation between pyometra and cystic endometrial hyperplasia/mucometra in bitches by prostaglandin F2 α metabolite analysis. **Theriogenology**, v. 66, n. 2, p. 198-206, 2006.

HAHN, S. et al. Timing of fertile period for successful pregnancy in American Bully dogs. **Theriogenology**, v. 104, p. 49-54, 2017.

HOFFMANN, B. et al. Aspects on hormonal control of normal and induced parturition in the dog. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 34, n. 3-4, p. 219-226, 1999.

HOFFMANN, B.; RIESENBECK, A.; KLEIN, R. Reproductive endocrinology of bitches. **Animal Reproduction Science**, v. 42, n. 1, p. 275-288, 1996.

IBGE. **População de Animais de Estimação no Brasil**, 2013. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-tematicas/insumos-agropecuarios/anos-antecedentes/ibge-populacao-de-animais-de-estimacao-no-brasil-2013-abinpet-79.pdf/view>>. Acesso em: 28 de mar.2018.

JEFFCOATE, I. A. Endocrinology of anoestrous bitches. **Journal of reproduction and fertility**. Supplement, v. 47, p. 69-76, 1993.

JÖCHLE, W.; ANDERSEN, A. C. The estrous cycle in the dog: a review. **Theriogenology**, v. 7, n. 3, p. 113-140, 1977.

JOHNSTON, S. D.; KUSTRITZ, M. V.; OLSON, P. S. **Canine and feline theriogenology**. Saunders, 2001.

LEÃO, K. M. **Técnicas de inseminação artificial**. 2003. 33 p. Monografia. (Pós-Graduação em Medicina Veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

LÉVY, X.; FONTBONNE, A. Determining the optimal time of mating in bitches: particularities. **Rev Bras Reprod Anim**, v. 31, n. 1, p. 128-134, 2007.

LINDE, C.; KARLSSON, I. The correlation between the cytology of the vaginal smear and the time of ovulation in the bitch. **Journal of Small Animal Practice**, v. 25, n. 2, p. 77-82, 1984.

LUZ, M. R. et al. Canine corpus luteum regression: apoptosis and caspase-3 activity. **Theriogenology**, v. 66, n. 6, p. 1448-1453, 2006.

MARSELOO, N. et al. Comparison of ovarian ultrasonography with hormonal parameters for the determination of the time of ovulation in bitches. In: **Proceedings of the 5th International Symposium on Canine and Feline Reproduction**. 2004.

MC GEE, E. A.; HSUEH, A. JW. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. **Endocrine reviews**, v. 21, n. 2, p. 200-214, 2000.

- MONNIAUX, D. et al. Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, v. 51, p. 3-23, 1997.
- NELSON, R.; COUTO, C. G. A prática da Teriogenologia. In:_____. **Medicina interna de pequenos animais**. 5. ed. São Paulo: Elsevier Brasil, 2015. cap. 56.
- OKKENS, A. C. et al. Evidence for prolactin as the main luteotrophic factor in the cyclic dog. **Veterinary Quarterly**, v. 12, n. 4, p. 193-201, 1990.
- OKKENS, A. C.; KOOISTRA, H. S. Anoestrus in the dog: a fascinating story. **Reproduction in domestic animals**, v. 41, n. 4, p. 291-296, 2006.
- OLSON, P. N. et al. Concentrations of reproductive hormones in canine serum throughout late anestrus, proestrus and estrus. **Biology of reproduction**, v. 27, n. 5, p. 1196-1206, 1982.
- OLSON, P. N. et al. Reproductive endocrinology and physiology of the bitch and queen. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v. 14, n. 4, p. 927, 1984
- REYNAUD, K. et al. In vivo meiotic resumption, fertilization and early embryonic development in the bitch. **Reproduction**, v. 130, n. 2, p. 193-201, 2005
- SANTOS, C. S. **Inseminação artificial: a fertilidade do sêmen canino congelado, comparada à do sêmen canino fresco: estudo retrospectivo**. 2012. 21 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária UFRGS, Porto Alegre, 2012.
- SANTOS; RAMIREZ-GALVEZ. **Entre humanos e animais – Relações familiares na sociedade contemporânea**. In: 28ª. Reunião Brasileira de Antropologia. São Paulo, 2012.
- SCHUTTE, A. P. Canine Vaginal Cytology—III Compilation and Evaluation of Cellular Indices. **Journal of Small Animal Practice**, v. 8, n. 6, p. 313-317, 1967.
- SILVA, A. R.; CARDOSO, RCS; SILVA, L. DM. Principais aspectos ligados à aplicação da inseminação artificial na espécie canina: main aspects for the accomplishment of artificial insemination in canine species. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 98, p. 33-40, 2003.
- SILVA, C. I. **Efeito da gestação sobre o intervalo entre estros em cadelas da raça Terrier Brasileiro**. 2016. 38 p. Trabalho de conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) Centro Universitário de Formiga-UNIFOR, Formiga, 2016.
- SILVA, L. D. M.; SILVA, A. R.; CARDOSO, R. C. S. Inseminação artificial em cães. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. Varela, São Paulo, p. 69-95, 2002.
- SORRIBAS, C. E. O ciclo estral, fecundação e gestação. In:_____. **Atlas de reprodução canina**. São Paulo: Interbook, 2006. cap. 3.

STANKIEWICZ, T.; BŁASZCZYK, B.; UDAŁA, J. A study on the occurrence of polyovular follicles in porcine ovaries with particular reference to intrafollicular hormone concentrations, quality of oocytes and their in vitro fertilization. **Anatomia, histologia, embryologia**, v. 38, n. 3, p. 233-239, 2009.

TANI, H. et al. Increasing gonadotropin-releasing hormone release by perfused hypothalamus from early to late anestrus in the beagle bitch. **Neuroscience letters**, v. 207, n. 1, p. 1-4, 1996.

TSUTSUI, T. Gamete physiology and timing of ovulation and fertilization in dogs. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, v. 39, p. 269-275, 1989.

VALTONEN, M.; JALKANEN, L. Species-specific features of oestrous development and blastogenesis in domestic canine species. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, v. 47, p. 133-137, 1993.

VANNUCCHI, C. I.; SATZINGER, S.; SANTOS, S. E. C. Técnica de citologia vaginal como método de diagnóstico da fase do ciclo estral em cadelas. **Clínica Veterinária**, v. 2, n. 9, p. 14-19, 1997.

WEBB, R.; WOAD, K. J.; ARMSTRONG, D. G. Corpus luteum (CL) function: local control mechanisms. **Domestic animal endocrinology**, v. 23, n. 1-2, p. 277-285, 2002.

WEILENMANN, R. et al. Estradiol and progesterone concentrations in the plasma of nonpregnant bitches during the sexual cycle. **Schweizer Archiv fur Tierheilkunde**, v. 135, n. 2, p. 51-57, 1993.

WRIGHT, P. J. Application of vaginal cytology and plasma Progesterone determinations to the management of reproduction in the bitch. **Journal of small animal practice**, v. 31, n. 7, p. 335-340, 1990.

WRIGHT, P. J. Practical aspects of the estimation of the time of ovulation and of insemination in the bitch. **Australian veterinary journal**, v. 68, n. 1, p. 10-13, 1991.

ANEXOS

ANEXO A – Dados do controle zootécnico da Clínica.

Dados do controle zootécnico da Clínica Provitta: dias a partir do aparecimento dos sinais de proestro relatados pelos proprietários, resultados de exames de citologia vaginal, dosagem sérica de progesterona e diagnóstico de gestação.

Cadela	Citologia	Início cio	P ₄
1	Estro	8	2,45
2	Diestro	7	32,71
3	Estro	11	9,62
3	Estro	9	3,63
4	Estro		0,8
5	Estro		5,17
6	Estro	12	6,63
6	Proestro	5	0,05
7	Estro	12	11,29
7	Estro	8	3,3
7	Proestro	6	1,2
8	Estro	9	12,14
8	Estro	7	2,55
8	Proestro	4	1,08
9	Estro	8	2
9	Estro	10	19,96
9	Estro	5	1,44
10	Diestro	9	45,2
11	Estro	9	8,21
12	Estro	10	5,97
12	Proestro	7	1,25
13	Estro	7	1,37
14	Estro	10	4,75
15	Estro	8	8,67
16	Estro		2,5
17	Diestro	13	49,46
17	Estro	9	8,41
17	Estro	8	7,89
18	Estro	11	28,7
18	Estro	7	3,56
19	Diestro	7	51,39
20	Estro	8	4,04
21	Estro	9	9,67
22	Estro		5,11
22	Estro		0,47

23	Estro	7	7,5
24	Estro	8	7,72
25	Estro	12	28,93
26	Diestro	20	33,56
26	Estro	15	4,55
26	Proestro	7	0,05
27	Estro	8	5,44
28	Estro	15	16,59
28	Estro	7	1,27
29	Estro	10	15,56
29	Estro	12	3,45
30	Estro	8	11,66
31	Estro	7	2,88
32	Estro	10	17,44
32	Proestro	6	1,88
33	Estro	10	23,23
34	Diestro	7	48,66
35	Estro	11	18,64
35	Estro	6	1,94
35	Estro	8	1,54
36	Estro	10	23,23
36	Estro	6	3,15
36	Estro	5	2,48

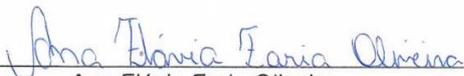
Diagnóstico de Gestação	
Positivo	Negativo ou ausente
85%	15%

ANEXO B – Autorização para uso de dados da Clínica Provitta**SOLICITAÇÃO DE AUTORIZAÇÃO PARA PESQUISA EM
BANCO DE DADOS**

Formiga, 03 de maio de 2018

Eu, Ana Flávia Faria Oliveira, portadora do CPF 121.338.116-99, regularmente matriculada no 9º período do curso de Medicina Veterinária no Centro Universitário de Formiga, matrícula nº 905811, responsável pelo Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária do UNIFOR-MG como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária, venho pelo presente, solicitar autorização do responsável pela Clínica Veterinária Provitta para utilizar os dados zootécnicos no trabalho de pesquisa sob o título “DETERMINAÇÃO DO PERÍODO FÉRTIL EM CADELAS POR MEIO DE CITOLOGIA VAGINAL E DOSAGEM SÉRICA DE PROGESTERONA” com o objetivo de avaliar a correlação entre sinais clínicos, citologia vaginal e dosagem sérica de progesterona no diagnóstico de ovulação em cadelas. Esta pesquisa está sendo orientada pela Professora Doutora Rebeca Marques Mascarenhas.

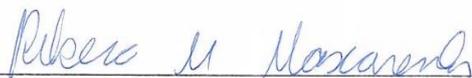
Contando com esta autorização, colocamo-nos à disposição para qualquer esclarecimento.



Ana Flávia Faria Oliveira



Orientadora Rebeca Marques Mascarenhas



Responsável pela Clínica Provitta

Rebeca Marques Mascarenhas