

INDUÇÃO DO ESTRO E MÉTODOS PARA CONTROLE DAS FASES DO CICLO ESTRAL EM CADELAS

(Induction of estrus and methods for control of estrous cycle in bitches)

Amanda Mendonça Hughes CARVALHO¹, Anselmo Domingos Ferreira SANTOS², Camilla Mendonça SILVA³

¹Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Cidade Univ. Prof. José Aloísio de Campos, Av. Marechal Rondon, s/n, Jd. Rosa Elze, São Cristóvão, SE. CEP: 49.100-000; ²Dpto de Zootecnia (UFS); ³PNPD/Capes.

*E-mail: camillamsazoo@gmail.com

RESUMO

Os estudos referentes à manipulação do ciclo estral em cadelas aumentaram significativamente ao longo dos anos. Com a criação comercial de cães ganhando destaque a nível internacional, há uma busca por incrementação no manejo reprodutivo desses animais, bem como o tratamento de condições prejudiciais à fertilidade na cadela, outro motivo é o fato dos cães domésticos também poderem atuar como modelos experimentais para várias espécies de canídeos silvestres e para o homem. Isso tem sido associado a uma maior disponibilidade de fármacos indutores de estro, como agonistas dopaminérgicos, análogos do GnRH e protocolos com gonadotrofinas, a exemplo do eCG. A manipulação eficiente do ciclo estral é de grande valia para o aperfeiçoamento das biotecnologias da reprodução nessa espécie e, mesmo com o avanço das pesquisas, os fármacos ainda não foram suficientemente testados para se obter o conhecimento das suas completas ações, bem como para apontar seus pontos fortes e fracos. Essa revisão de literatura tem como objetivo ampliar as informações a respeito do assunto, abordando aspectos relacionados à fisiologia e endocrinologia reprodutiva na cadela, as particularidades do ciclo estral canino, descrevendo as alterações anatômicas, citológicas e hormonais, bem como os principais moduladores do ciclo estral de cadelas, apontando seus efeitos e controvérsias e proporcionando o surgimento de protocolos eficientes para a indução do estro nesses animais.

Palavras chave: Reprodução canina, indução de estro, agonistas da dopamina, GnRH.

ABSTRACT

Studies on the manipulation of estrous cycle in bitches have increased significantly over the years. With the commercial breeding of dogs gaining prominence internationally, there has been a need for improvement of the reproductive management of these animals, as well as the treatment of conditions which are detrimental to bitches' fertility. Another reason is that domestic dogs can also act as experimental models to several species of wild dogs and to man. This has been associated with a greater availability of estrus-induction pharmacological drugs, such as dopamine agonists, GnRH analogue and protocols with gonadotropin, such as eCG. Efficient manipulation of the estrous cycles is of great importance for the improvement of the reproductive biotechnology in this species. Notwithstanding the advances in research, the drugs have not yet been sufficiently tested in order to have their action fully understood, nor to identify their strengths and weakness.

*Endereço para correspondência:
camillamsazoo@gmail.com

This literature review aims to expand the information on subject, addressing aspects related to the reproductive physiology and endocrinology in bitches, as well as the main modulators of the estrous cycle, pointing out their effects and differences and providing information for the creation of new efficient protocols for induction of estrus in those animals.

Key words: Canine reproduction, estrous induction, dopamine agonist, GnRH.

INTRODUÇÃO

O interesse nas particularidades reprodutivas da espécie canina e a demanda por serviços especializados na área de reprodução vem aumentando significativamente, pois, além de serem animais de companhia, podem ser utilizados como modelos experimentais para outras espécies de canídeos (DERUSSI e LOPES, 2009). Neste sentido, formas confiáveis para indução e sincronização do estro são necessárias para o aprimoramento das técnicas da reprodução, a exemplo dos programas de inseminação artificial e transferência de embriões caninos.

Características da reprodução canina são únicas entre os animais domésticos, e incluem ciclos ovarianos com maturação do oócito após a ovulação, aumento pré-ovulatório da progesterona sérica associado à luteinização pré-ovulatória dos folículos, elevação na progesterona sérica por períodos maiores ou iguais aos dois meses de gestação e um anestro obrigatório de inatividade ovariana aparente que persiste por tempos variados, de dois a dez meses (CONCANNON e VERSTEGEN, 2005). Algumas cadelas podem ser consideradas inférteis devido à falha na concepção, quando acasaladas entre o 10º e o 14º dia após início do proestro, intervalo médio mais comumente utilizado. Tais falhas no momento da inseminação podem ser resolvidas com a determinação do tempo da ovulação (WILBORN e MAXWELL, 2012).

A citologia vaginal é uma técnica de fácil execução e custo reduzido que permite detectar as modificações celulares do epitélio da mucosa vaginal, permitindo diferenciar as fases do ciclo estral mesmo em cadelas em que não se conhece o histórico do ciclo reprodutivo (JOHNSTON *et al.*, 2001). Para uma melhor confirmação da ovulação, estão disponíveis testes complementares, como o monitoramento das concentrações de progesterona em amostras de soro ou plasma (CONCANNON e VERSTEGEN, 2005).

Outro método que está se tornando fundamental para o controle do ciclo reprodutivo das cadelas é a ultrassonografia que, além do papel importante no diagnóstico precoce de gestação, permite o acompanhamento de diversas outras características, entre elas o desenvolvimento folicular e formação do corpo lúteo (JOHNSTON *et al.*, 2003). Os ovários dessa espécie são estruturas difíceis de se avaliar na ultrassonografia comum devido ao tamanho diminuto e ecogenicidade semelhante aos tecidos envoltos, com isso, o modo *Doppler* pode ser associado, auxiliando em uma detecção mais segura da ovulação (DOMINGUES *et al.*, 2007). Segundo Vermeulen (2009), ocorreu intensidade máxima de cor no *Doppler* durante a avaliação do aparelho reprodutivo dois dias após o pico pré-ovulatório de LH na maioria das cadelas de seu estudo, sugerindo que o fluxo se intensifica no período da ovulação.

Esse avanço nos estudos referentes à biologia reprodutiva em cadelas tem sido associado à uma maior disponibilidade de agentes farmacológicos para a manipulação do ciclo estral. Segundo Silva (2016), algumas drogas mostraram-se úteis na reprodução de cadelas, como os inibidores da prolactina e os agonistas do GnRH que vêm mostrando potencial para indução do ciclo estral. Seu mecanismo de ação envolve a estimulação direta da hipófise, causando a liberação do hormônio folículo-estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH), resultando em uma resposta ovariana (LANNA *et al.*, 2010).

O objetivo da presente revisão de literatura é ampliar as informações a respeito do assunto, abordando particularidades relacionadas à fisiologia e endocrinologia reprodutivas da cadela, bem como os principais moduladores do ciclo estral.

DESENVOLVIMENTO

Fisiologia Reprodutiva

O ciclo estral das cadelas é dividido em fases distintas, proestro, estro, diestro e anestro, onde se estabelecem alterações hormonais que induzem modificações clínicas e citológicas (OLIVEIRA *et al.*, 2003). As cadelas são monoéstricas não estacionais, podem ovular uma ou duas vezes ao ano, e o período entre um proestro e outro é chamado intervalo interestro (IE) e pode durar em torno de 16 a 56 semanas (CONCANNON *et al.*, 2006). Os protocolos de indução de estro são utilizados para encurtar o IE. Durante o anestro, as concentrações de FSH estão aumentadas e as de LH diminuídas, no anestro tardio há um aumento mais significativo no FSH que é determinante para a foliculogênese e início do proestro em cães, além de induzir a expressão de receptores de LH nas células da granulosa ovarianas (KUTZLER, 2018).

As cadelas atingem a puberdade em torno dos sete meses de idade, podendo variar conforme alguns fatores, entre eles raça e porte, animais de porte pequeno tendem a ter uma puberdade mais precoce em comparação aos de grande porte que iniciam seu ciclo reprodutivo mais tardiamente, por volta de nove a doze meses de idade (CONCANNON, 2011). O intervalo entre os ciclos é de aproximadamente seis meses, porém, em algumas raças como Basenji, um intervalo de 12 meses é considerado normal (FONTAINE e FONTBONNE, 2011).

FASES DO CICLO ESTRAL

Proestro

Esse período tem como principais características edema vulvar e presença de corrimento vaginal que varia de serosanguinolento a sanguinolento. Sua duração é, em média, nove dias (CONCANNON, 2011). No final do proestro ocorre um aumento contínuo nas concentrações séricas de estrógeno (E2), o que resulta na estratificação do epitélio vaginal e consequente predomínio de células superficiais nos esfregaços vaginais, características da fase seguinte (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

Outras modificações que ocorrem em decorrência do aumento dos níveis de E2 são o espessamento da tuba uterina e do endométrio, proliferação das fimbrias tubáricas,

aumento da atividade miometrial e proliferação da parede vaginal. A elevação dos níveis de progesterona (P4) ocorre em torno de quatro dias antes do início do estro, coincidindo com a queda de E2 devido à luteinização pré-ovulatória, havendo um aumento mais intenso de P4 após a ovulação. O LH é liberado de forma pulsátil pela hipófise, estimulando a maturação e ovulação dos folículos ovarianos, ocorre uma elevação de amplitude e frequência desses pulsos no final do proestro, até alcançar um pico 48 horas antes da ovulação (FELDMAN e NELSON, 2004). O FSH estimula o desenvolvimento dos folículos ovarianos, atuando em sinergia com o LH na maturação desses (HAFEZ, 2004).

Estro

Nesse estágio do ciclo são desencadeadas as mudanças comportamentais e fisiológicas observadas nas cadelas em estro, que passam a ficar mais receptivas aos machos, essa fase tem início no momento em que as concentrações plasmáticas de E2 diminuem e de P4 aumentam, chegando a níveis acima de 1 a 3 ng/mL durante o pico pré-ovulatório de LH. A duração desse período varia de 5 a 9 dias e há uma diminuição no edema e na secreção vaginal. Na citologia, há a predominância de células superficiais queratinizadas (CONCANNON, 2011).

O pico de LH persiste por 12 a 24 horas e é seguido pela ovulação, que ocorre de 24 a 48 horas depois. Os ovócitos, diferente de algumas espécies de mamíferos, são liberados ainda imaturos, com isso, eles necessitam de 1 a 3 dias (24 a 96 horas) até completarem a sua maturação. Após a ovulação e o início da formação do corpo lúteo a concentração de P4 se eleva, atingindo 10 a 20 ng/mL (FELDMAN e NELSON, 2004).

Diestro

Essa fase tem duração de 60 a 100 dias caso a fêmea não esteja gestante. Há a predominância de P4, que atinge concentrações de 15 a 80 ng/mL até aproximadamente o dia 30 do ciclo, declinando lentamente até atingir valores abaixo de 1 ng/mL. Na citologia vaginal são encontrados neutrófilos e há uma predominância de células parabasais e intermediárias em relação às superficiais queratinizadas (CONCANNON, 2011).

Essas alterações são semelhantes às que ocorrem em fêmeas gestantes, o que pode ser uma explicação para a grande incidência de pseudociese em cadelas (GOBELLO *et al.*, 2002).

Anestro

É a fase de quiescência e involução uterina e dura de dois a dez meses, podendo variar de acordo com a raça, porte e condições sanitárias dos animais. São observadas oscilações de LH, que pode manter-se basal ou apresentar pulsos de 3 a 30 ng/mL a cada 8 a 12 horas, e de FSH, que permanece aumentado, com níveis variando entre 50 e 400 ng/mL. A involução uterina completa leva em média 120 dias contados a partir do proestro em cadelas que não ficaram gestantes, podendo ser um pouco maior naquelas que passaram por gestação. A citologia vaginal apresenta células parabasais e um número variável de

neutrófilos (CONCANNON, 2011 e KUTZLER, 2007). Durante essa fase, a P4 atinge níveis basais, abaixo de 0,5 ng/mL (CONCANNON e VERSTEGEN, 2005).

MATURAÇÃO OVOCITÁRIA

Na maioria dos mamíferos o processo de maturação ovocitária ocorre no ambiente folicular, onde são expostos a concentrações crescentes de E2. Quando há o pico do hormônio luteinizante (LH) ocorre ovulação e os ovócitos liberados estão em metáfase II, prontos para serem fecundados (APPARÍCIO *et al.*, 2011). De modo distinto, ovócitos de cadelas estão expostos, além da ação de E2, à altas concentrações de progesterona no folículo pré-ovulatório e são ovulados, em média, dois dias após o pico de LH, quando ainda estão imaturos (APPARÍCIO e VICENTE, 2015). Desta forma, necessitam de um período adicional de dois a cinco dias dentro da tuba uterina para retomarem meiose e atingirem o estágio de metáfase II, quando estarão aptos a serem fecundados. A maturação dos oócitos caninos se dá fora do ambiente folicular, na tuba uterina, onde também ocorre a fertilização e o desenvolvimento até o estágio de blastocisto (LUVONI *et al.*, 2005).

PROTOSCOLOS DE INDUÇÃO DE ESTRO - AGONISTAS DO GnRH

Entre as principais indicações para indução de estro em fêmeas caninas estão casos em que o animal não apresentou sinais de estro até os 24 meses de idade, intervalos maiores que 12 meses entre um estro e outro, necessidade de programar parições para uma determinada época do ano ou disponibilidade restrita de um macho para cobertura ou inseminação. Os diferentes protocolos para indução de estro em cadelas variam em eficácia e taxas de ovulação e gestação (KUTZLER, 2018).

Vários protocolos estão sendo estudados nos últimos anos, incluindo estrógenos sintéticos como dietilestilbestrol, agonistas de GnRH, agonistas dopaminérgicos e gonadotrofinas exógenas (LH, FSH, eCG, hCG) (JOHNSTON *et al.*, 2003; KUTZLER, 2007).

AGONISTAS DO GNRH

Lutrelina

Em um estudo de Concannon *et al.* (2006), a administração contínua da lutrelina foi testada em cadelas em diferentes fases de anestro, em seis diferentes doses, de 0,2 a 4,8 mg/kg/dia, com duração de 7 a 14 dias. Foi constatado que esse fármaco induziu um proestro normal em 89% das cadelas em torno de 4,8 dias, que posteriormente levou ao estro espontâneo em 71 % dos casos, ovulação em 59% e gestação em 44% das cadelas tratadas. A dose que produziu melhores resultados foi de 0,6 mg/kg/dia durante 12 dias, tanto na indução do estro, quanto na taxa de gestação que foi de 100%. A dose que produziu melhores resultados foi de 0,6 mg/kg/dia durante 12 dias, desencadeando proestro em 92% das cadelas e estro em 82%, obtendo taxa de gestação em 92% destes animais.

Deslorelina

O mecanismo de ação inicial da deslorelina é estimular um aumento na síntese de gonadotrofinas. Ela pode ser utilizada na forma de implantes que liberam o fármaco de forma gradual, ou aplicações subcutâneas ou intramusculares de determinadas doses. Em alguns estudos, a indução do estro pôde ser observada na maioria das cadelas que receberam implantes de deslorelina, independentemente do estágio do anestro em que foi feita a aplicação. Em geral, todas as cadelas em idade reprodutiva respondem igualmente, independentemente do porte e idade, porém, isso pode ser modificado a depender do estágio do ciclo em que elas se encontrem (FONTAINE e FONTBONNE, 2011).

Nos cães, esse fármaco tem um poder 150 vezes maior que o GnRH endógeno e produz resultados satisfatórios quando utilizado na forma de implantes subcutâneos (GOBELLO 2006), o tempo de aparecimento da secreção vaginal serosanguinolenta foi semelhante, com implantes de 4,7 mg de deslorelina, variando entre 4 e 6 dias contados do dia em que foi aplicado (FONTAINE e FONTBONNE, 2011). Também foram estudados implantes de 2,1 mg, onde os sinais de proestro começaram a surgir 6 dias após a aplicação, e a ovulação ocorreu em média aos 11 dias pós-inserção (intervalo de 8 a 16 dias) (KUTZLER *et al.*, 2009).

Em uma pesquisa de Lanna *et al.* (2010), foi testada a eficácia da forma injetável de deslorelina 2 mg em cadelas no anestro, obtendo sucesso na indução de estro nas cadelas que receberam quatro aplicações de 2 mg/kg IM com intervalo de 48 horas.

Buserelina

Em cadelas na fase de anestro, o acetato de buserelina administrado em duas doses, tanto de 2,1 mcg/animal quanto de 4,2 mcg/animal, via intramuscular, com intervalo de 10 dias, foi eficaz na indução do estro fértil em menos de duas semanas após a última aplicação, obtendo 100% de taxa de prenhez após acasalamento natural (REZENDE *et al.* 2018).

Em um estudo anterior, não houve significativo progresso na indução do estro fértil utilizando 3 doses ao dia de 1,5 µg/kg durante 11 dias, seguidas de 0,75 µg/kg por 3 dias (ROTA *et al.*, 2003).

AGONISTAS DOPAMINÉRGICOS

Os principais agonistas da dopamina de importância para a espécie canina são Cabergolina e Bromocriptina (GOBELLO, 2006), eles têm como principal mecanismo a ação direta nos receptores D2 da dopamina nas células lactotróficas da hipófise anterior, inibindo a secreção de prolactina. Em algumas espécies, esses fármacos inibem a secreção de gonadotrofinas, com conseqüente inibição do estro, já nas cadelas, eles induzem o aparecimento do mesmo. Ainda não se sabe se esses medicamentos têm efeito direto nas gônadas, no entanto, foi notado que a administração deles durante o proestro e estro não afetou o desenvolvimento folicular (RENSIS *et al.*, 2006).

A Cabergolina apresentou menos efeitos colaterais e tem a vantagem de poder ser administrada apenas uma vez ao dia (CONCANNON 2002). Esse fármaco está disponível principalmente via oral, com dose usual de 5 µg/Kg no período de anestro. Foi identificada uma redução do intervalo interestral de até 56 dias, seguida por estro fértil em 5 cadelas que estavam no período inicial do anestro (100 a 120 dias contados do final do estro anterior) tratadas com a dose usual de Cabergolina uma vez ao dia, durante 15 dias, sem aparecimento de efeitos colaterais (PAULA, 2009).

Além do custo relativamente elevado, há uma grande dificuldade na dosagem com precisão, principalmente em animais de pequeno porte, onde os comprimidos precisam ser triturados e diluídos imediatamente antes de oferecer (MCLEAN *et al.*, 2007). Cirit *et al.* (2007) observaram que há a diluição completa do comprimido em 50ml de água destilada, produzindo uma solução de 0,01mg/mL.

Um dos efeitos colaterais relatados é a mudança de coloração da pelagem em alguns animais, apesar de reversível à medida em que há renovação dos folículos pilosos (KUSTRITZ, 2012).

GONADOTROFINAS

No cão, tanto o LH quanto o FSH são foliculotrópicos, sua administração isolada pode induzir o estro, no entanto, estudos que utilizaram protocolos com dosagens semelhantes às endógenas não foram bem-sucedidos (KUTZLER, 2005). A utilização de gonadotrofinas provocou alterações na citologia vaginal características de proestro e estro, porém, na avaliação macroscópica do ovário, notou-se um fluido folicular extremamente denso e viscoso que envolvia os ovócitos, podendo estar associado às baixas taxas de fertilidade (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Uma dose de 50 UI/kg de gonadotrofina coriônica equina (eCG), seguida por 500 UI de gonadotrofina coriônica humana (hCG) proporcionou o estro em 80% dos animais estudados (STORNELI *et al.* 2012).

O estudo de NAK *et al.* (2012) também obteve sucesso na indução do estro fértil seguido de gestação com eCG na dose de 20 UI/kg por dia durante 5 dias, seguido por 25 UI/kg de hCG no quinto dia.

ESTRÓGENO

O aumento de E2 ocorre no anestro tardio aumentando a responsividade do ovário às gonadotrofinas endógenas, embora não se tenha muito conhecimento sobre uma possível toxicidade após a aplicação de estrógenos exógenos devido aos estudos escassos, o dietilestradiol (DES) foi utilizado com sucesso no estudo de Kutzler (2007), onde foi utilizada a dose de 5 mg/dia por animal durante 6 a 9 dias, ou até que os animais manifestassem sinais de proestro.

EXAMES COMPLEMENTARES PARA DETECÇÃO

DO ESTÁGIO DO CICLO ESTRAL

Citologia Vaginal

A citologia vaginal é um meio de diagnóstico eficiente e de baixo custo muito utilizado na reprodução de cadelas, tem como objetivo verificar a celularidade do epitélio vaginal que varia de acordo com o período do ciclo estral e alterações hormonais. Por meio de um Swab ou escova ginecológica, é feito a coleta do material no canal vaginal (RASKIN *et alv.*, 2001) depositando-o em uma lâmina de microscopia que será corada com o método panótico para posterior observação no microscópio óptico. No proestro, há uma queratinização progressiva das células epiteliais, um aumento de células intermediárias e superficiais, além da presença de hemácias e alguns neutrófilos (FELDMAN e NELSON, 2004).

A realização de exames citológicos seriados a partir do início do proestro pode facilitar a determinação da onda pré-ovulatória de LH, e uma contagem acima de 80% de células superficiais determina a concentração máxima de estrógeno, indicando que a cadela está entrando na fase de estro. A mudança abrupta dos tipos celulares resultando em células parabasais e intermediárias indica o primeiro dia do diestro. No anestro há a predominância de células intermediárias e parabasais, podendo ter ou não a presença de neutrófilos (FELDMAN e NELSON, 2004).

VAGINOSCOPIA

Também chamado de endoscopia vaginal, é o exame que permite a observação e avaliação da mucosa, sendo os principais parâmetros: cor, contorno ou pregueamento e presença de fluidos (FONTAINE e FONTBONNE, 2011). No proestro inicial, são observadas alterações como edemaciação da mucosa, juntamente com pregueamento, coloração rósea e fluido serosanguinolento devido a ação crescente de E2. O edema da mucosa vai se atenuando à medida que o ciclo vai se aproximando do estro, tornando-a ressecada e pregueada. O diestro pode ser identificado quando se observa uma diminuição representativa do pregueamento, coloração esbranquiçada e tons avermelhados. No anestro, as características observadas são: mucosa lisa e plana de coloração avermelhada (CONCANNON, 2002).

DOSAGENS HORMONAIIS

No dia 2 após o pico de LH, a P4 aumenta para valores entre 2 e 5 ng/mL, no dia 4, dois dias após a ovulação a progesterona alcança 3 a 8 ng/mL, e no dia 6 após o pico de LH é tipicamente entre 6 e 12 ng/mL (CONCANNON, 2005). A dosagem de P4 é o método mais utilizado atualmente e pode ser feita com auxílio de kits comerciais semi-quantitativos através do método ELISA ou por radioimunoensaio (RIE), sendo este último mais acurado (JOHNSTON *et al.*, 2003). Sabe-se que a ovulação já ocorreu a partir do momento em que se obtém valores acima de 4 ng/mL.

A dosagem de LH é menos utilizada na rotina clínica, seu uso pode ser concomitante com a dosagem de P4, e tem como objetivo a identificação do pico de LH, que é caracterizado quando forem detectadas concentrações séricas acima de 1,0ng/mL associadas à concentração de P4 acima de 4ng/mL.

AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA MODO B E *DOPPLER*

A avaliação do aparelho reprodutor por meio de ultrassonografia permite exploração uterina e ovariana, mensurações do diâmetro folicular, do nível do fluxo sanguíneo da artéria intra-ovariana e velocidade do seu pico sistólico, uma frequência de 7,5 MHz do transdutor linear pode ser utilizada no modo B ou *Doppler* para avaliar esses parâmetros (VERMEULEN, 2009).

Durante o anestro e início do proestro, os ovários têm tamanho diminuto e medem em torno de 15x10x6mm considerando animais do tamanho de um beagle. Durante a fase folicular e lútea, eles aumentam de tamanho gradualmente, chegando a medir 25x14x11 mm (EKER e SALMANOGLU, 2006).

A posição dos ovários é no polo caudal ou caudolateral ao rim ipsilateral, em cães maduros, o ovário esquerdo está situado 12 cm caudal à décima terceira costela, e o direito a aproximadamente 10 cm. Em anestro, quando não há folículos, eles podem ser difíceis de encontrar (VERMEULEN, 2009).

Na reprodução e obstetrícia canina, os estudos sobre *Doppler* ainda são escassos (ALVAREZ-CLAU e LISTE 2005). Com o avanço das pesquisas, constatou-se que o fluxo sanguíneo nos ovários varia com cada fase do ciclo estral normal. No proestro foi verificado um aumento gradual na perfusão ovariana durante, atingindo seu nível máximo na ovulação e no do diestro (KOSTER *et al.*, 2001). Segundo Alvarez-Clau e Liste (2005), o aumento da velocidade sistólica e consequente redução da resistência vascular das artérias uterinas ocorrem por influência do estrógeno.

Ao *Doppler*, sinais da irrigação podem ser mapeados em cortes transversais e longitudinais do corpo e colo uterino, mas a identificação dessas estruturas pode ser dificultada devido aos artefatos produzidos pelo cólon descendente (ALVAREZ-CLAU e LISTE 2005).

Em um estudo de Vermeulen (2009) onde foram feitas ultrassonografias diárias nos Modos B e *Doppler* em cadelas, foi constatado que houve um aumento acentuado do fluxo sanguíneo ovariano no período em torno do pico de LH, atingindo valores máximos no dia da ovulação, sugerindo-se que o aumento da vascularização ovariana pode estar relacionado com o período ovulatório da cadela. A ovulação foi estimada através de dosagem de progesterona por ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), considerando-se que a ovulação ocorreu 2 dias após a dosagem atingir 2 ng/mL.

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

A inseminação artificial (IA) pode ser utilizada para confirmar a fertilidade do estro induzido, além de promover uma série de benefícios para a reprodução canina, entre

eles a eliminação do desgaste no transporte de animais no momento do acasalamento quando estes se encontram em regiões distantes, evitar a proliferação de doenças sexualmente transmissíveis, além de ser uma alternativa em casos de animais agressivos ou de tamanhos desproporcionais ou que são impossibilitados de realizar a monta natural por outros motivos (UCHOA *et al.*, 2012).

A via de inseminação mais utilizada é a intravaginal, onde o sêmen é depositado na porção distal da vagina por meio de uma pipeta específica para a espécie, sonda rígida ou sonda de Osíris flexível, que contém em sua extremidade um balão inflável, simulando o papel do bulbo cavernoso peniano. A via intrauterina pode ser realizada através de laparoscopia, onde sêmen é depositado em um dos cornos uterinos, ou por via não cirúrgica (SILVA *et al.*, 2003) através de cateterismo transcervical auxiliado por endoscopia, porém, a mesma exige destreza do profissional devido à anatomia não favorável da cérvix e pode ser necessária a sedação do animal (GONÇALVES 2008).

De acordo com Johnston *et al.* (2001), a data ideal para realizar a IA seria dois dias após a dosagem de P4 atingir valores entre 4 e 10 ng/mL, uma vez que a elevação desse hormônio corresponde ao pico de LH que ocorre em torno de 48 horas antes da ovulação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora existam muitos métodos para a manipulação do ciclo estral em canídeos, o sucesso tanto na indução do estro, quanto da ovulação, gestação e parto subsequentes variam conforme os vários protocolos. O conhecimento do complexo sistema endócrino dessa espécie, incluindo os mecanismos responsáveis pela ocorrência do anestro prolongado fisiológico, proporcionará uma seleção mais adequada de protocolos para o paciente. A indução do estro ainda não é frequentemente utilizada na rotina clínica devido à escassez de estudos sobre o tema nessa espécie. Protocolos com agonistas da dopamina ou do GnRH se mostraram boas opções e devem ser estudados mais profundamente. O controle do ciclo reprodutivo também auxiliará na preservação de espécies de canídeos ameaçados de extinção. O uso do cão como modelo experimental para outras espécies, inclusive em estudos humanos, torna a pesquisa relacionada a esta espécie extremamente promissora à comunidade científica.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ-CLAU, A.; LISTE, F. Ultrasonographic characterization of the uterine artery in the nonestrus bitch. *Ultrasound in Medicine & Biology*, v.31, n.12, p.1583-1587. 2005.
- APPARÍCIO M.; MOSTACHIO G.Q.; MOTHEO T.F.; PADILHA, A.E.; ALVES, A.E.; PIRES-BUTLER, E.A.; VICENTE, W.R.R. Maturação in vitro de oócitos caninos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.35, p.16-25, 2011.

APPARÍCIO, M.; VICENTE, W.R.R. Desenvolvimento embrionário e transferência de embriões em cadelas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.39, n.1, p.146-149, 2015.

CIRIT, U.; BACINOGLU, S.; CANGUL, I.T.; KAYA, H.H.; TAS, M.; AK, K. The effects of a low dose of cabergoline on induction of estrus and pregnancy rates in anestrus bitches. *Animal Reproduction Science*, v.101, p.134-44, 2007.

CONCANNON, P.W. Methods for induction of estrus in dogs using gonadotropins, GnRH or dopamine agonists. In: *World Small Animal Veterinary Association Congress*, Granada, Espanha, p.582-584, 2002.

CONCANNON, P.W. Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal Reproduction Science*, v.124, p.200-210, 2011.

CONCANNON, P.W.; TEMPLE, M.; MONTANEZ, A.; NEWTON, L. Effects of dose and duration of continuous GnRH agonist treatment on induction of estrus in beagle dogs: Competing and concurrent up-regulation and downregulation of LH release. *Theriogenology*, v.66, p.1488-1496, 2006.

CONCANNON PW, VERSTEGEN J. *Estrus Induction in Dogs: Approaches, Protocols and Applications*. College of Veterinary Medicine, Cornell University Ithaca, NY, USA; 2005. Acesso em 25 novembro de 2019. Disponível em: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?id=3854216&pid=11196>.

DERUSSI, A.A.P.; LOPES, M.D. Fisiologia da ovulação, da fertilização e do desenvolvimento embrionário inicial na cadela. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.33, n.4, p.231-237, 2009.

DOMINGUES, S.F.S.; CALDAS-BUSSIÈRE, M.C.; MARTINS, N.D.; CARVALHO, R.A. Ultrasonographic imaging of the reproductive tract and surgical recovery of oocytes in *Cebus apella* (capuchin monkeys). *Theriogenology*, v.68, p.1251-1259, 2007.

EKER, K.; SALMANOGLU, M.R. Ultrasonographic Monitoring of Follicular Development, Ovulation and Corpora lutea Formation in a Bitch. *Turk Journal of Veterinary Animal Science*, v.30, p.589-592, 2006.

FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W. *Canine and feline endocrinology and reproduction*. 3^a ed., 23 Philadelphia: W.B Saunders, p.752-774, 2004.

FONTAINE E., FONTBONNE A. Clinical use of GnRH agonists in canine and feline species. *Reproduction in Domestic Animal*, v.46, p.344-353, 2011.

GOBELLO, C. Dopamine agonists, anti-progestins, anti-androgens, long-term-release GnRH agonists and anti-estrogens in canine reproduction: a review. *Theriogenology*, v.66, p.1560-1567, 2006.

GOBELLO, C.; CASTEX, G.; CORRADA, Y. Use of cabergoline to treat primary and secondary anoestrus in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.220, p.1653-1654, 2002.

GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREIDO, R.J.; FREITAS, F.J.V. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal, 2ª ed., p.181-189, editora Roca Ltda., São Paulo, Brasil, 2008.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Reprodução Animal. 7ª ed., São Paulo: Manole, p.37-38, 2004.

JOHNSTON, S.D.; ROOT-KUSTRITZ, M.V.; OLSON, P.N.S. Canine and Feline Theriogenology. Philadelphia, W. B. Saunders, 2001. In: SILVA, A.R.; CARDOSO, R.C.S.; SILVA, L.D.M. Principais aspectos ligados a aplicação da inseminação artificial na espécie canina, Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, v.110, ed.595-596, p.53-60, Portugal, 2003.

KOSTER, K.; NAUTRUP, C.P.; GUNZEL-APEL, A.R. A Doppler ultrasonographic study of cyclic changes of ovarian perfusion in the Beagle bitch. *Reproduction*. v.122, p.453-461. 2001.

KUSTRITZ, M.V.R. Managing the reproductive cycle in the bitch. *Vet. Clin. Small Anim.*, v. 22, p. 423-437, 2012.

KUTZLER, M. A. Estrous Cycle Manipulation in Dogs. condition in the cat and dog. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v.48, p.581-594, 2018.

KUTZLER, M.A. Estrus induction and synchronization in canids and felids. *Theriogenology*, v.68, p.354-374, 2007.

KUTZLER, M.A. Induction and synchronization of estrus in dogs. *Theriogenology*, v.64, p.766–775, 2005.

KUTZLER, M.A.; LAMB S.V.; VOLKMANN, D. Comparison between vestibular and subcutaneous insertion of deslorelin implants for oestrus induction in bitches. *Reproduction in Domestic Animal*, v.44, suppl.2, p.83-86, 2009.

LANNA, L.L, MARQUES JR, A.P. DOUGLAS, R.H. Efeito de deslorelina na indução do estro em cadelas anestro. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, n.3, p.615-621, 2010.

LUVONI, G.C.; CHIGIONI S.; ALLIEVI, E.; MACIS, D. Factors involved in vivo and in vitro maturation of canine oocytes. *Theriogenology*, v.63, p.41-59, 2005.

MCLEAN, S.; BRANDON, S.; KIRKWOOD, R. Stability of cabergoline in fox baits in laboratory and field conditions. *Wildlife Research*, v.34, p.239–46, 2007.

OLIVEIRA, E.C.S.; MARQUES JÚNIOR, A.P.; NEVES, M.M. Endocrinologia reprodutiva e controle da fertilidade na cadela – Revisão. *Archives of Veterinary Science*, v.8, n.1, p.1-12, 2003.

PAULA, M.C. Indução do estro em cadela (*Canis familiaris*): aspectos clínico, comportamental e hormonal. 2009, 77p. Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UEP, Botucatu.

RASKIN, R.E.; MEYER, D.J. Atlas da Citologia Canina e Felina. Filadélfia, 1ª ed., WB Saunders Co, p.277-312, 2001.

RENSIS, F.; SPATTINI, G.; BALLABIO, R.; SCARAMUZZI, R.J. The effect of administering a dopamine agonist (cabergoline) on follicular and luteal development during proestrus and estrus in the female greyhound. *Theriogenology*, v.66, p.887-95, 2006.

REZENDE, R.S.; EURIDES, D.; BARBOSA, C.P.; LACERDA, M.S.; SAMPAIO, R.L.; GOMES, A.L. Use of a GnRH synthetic analog (buserelin) for estrous induction in female dogs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.70, n.3, p.656-660, 2018.

RIBEIRO, A.P.C.; VICENTE, W.R.R.; SANTOS, I.W.; PIRES, E.A.; ALVES, A.E.; APPARÍCIO, M. Gonadotrofinas na indução do estro em cadelas. *Rev. Bras. Saúde e Produção Animal*, v.8, n.4, p.324-334, 2007.

ROMAGNOLI, S.; STELLETTA, C.; MILANI, C.; GELLI, D.; FALOMO, M.; MOLLO, A. Clinical use of deslorelin for the control of reproduction in the bitch. *Reproduction in Domestic Animal*, v.44, p.36-39, 2009.

ROTA, A.; MOLLO, A.; MARINELLI, L.; GABAI, G.; VICENTI, L. Evaluation of Cabergoline and Buserelin Efficacy for Oestrous Induction in the Bitch. *Reproduction in Domestic Animal*, v.38, p.440-443, 2003.

SILVA, A.R.; CARDOSO, R.C.S.; SILVA, L.D.M. Principais aspectos ligados a aplicação da inseminação artificial na espécie canina, *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v.110, ed.595-596, p.53-60, 2003.

SILVA, L.D.M. Controle do Ciclo Estral em Cadelas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.40, n.4, p.180-187, 2016.

STORNELLI, M.C.; GARCÍA MITACEK, M.C.; GIMÉNEZ, F.; BONAURA, M.C.; VIDELA DORNA, I.; DE LA SOTA, R.L.; STORNELLI, M.A. Pharmacokinetics of eCG and induction of fertile estrus in bitches using eCG followed by hCG. *Theriogenology*, v.78, p.1056-1064, 2012.

UCHOA, D.C.; SILVA, T.F.P.; FILHO, A.C.M.; SILVA, L.D.M. Criopreservação de sêmen e inseminação artificial em cães, Fortaleza CE, 2012. In: Congresso Norte e Nordeste de Reprodução Animal, UECE, *Ciência Animal*, v.22, p.132-142, 2012.

VERMEULEN, M.A.E. Ovarian color-Doppler ultrasonography to predict ovulation in the bitch. 2009. Acesso em 08 de junho de 2018. Disponível em [<http://dspace.library.uu.nl/bitstream/handle/1874/35523/Verslag%20Marrit%20Vermeulen.pdf?sequence=1>].

WILBORN, R.R.; MAXWELL, H.S. Clinical Approaches to Infertility in the Bitch. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v.42, p.457-468, 2012.