

Concentrações séricas de progesterona, 17 β -estradiol e cortisol durante o final do próestro, estro e diestro gestacional em cadelas

Progesterone, estradiol 17 β and cortisol serum concentrations during late proestrus, estrus and gestational diestrus in canine female dogs

Ana Helena Benetti¹ Gilson Hélio Toniollo² João Ademir de Oliveira³

RESUMO

Neste estudo, foram utilizadas 7 cadelas sem raça definida, adultas e hígdas, copuladas com macho hígido, após exame andrológico, para acompanhamento das variações hormonais de progesterona, 17 β -estradiol e cortisol a partir do final do próestro, durante o estro e diestro gestacional em fêmeas da espécie canina. As avaliações séricas do cortisol foram iniciadas no período de estro. A citologia vaginal esfoliativa foi utilizada como parâmetro auxiliar para a determinação das fases do ciclo estral, mais especificamente para análise do melhor momento para cópula, através da presença das células superficiais queratinizadas visibilizadas nas lâminas. Os resultados obtidos mostraram concentrações médias de progesterona elevando-se discretamente no final do próestro (de 1,56 para 2,85ng ml⁻¹), concomitante com o início do declínio dos valores de estradiol no mesmo período (de 20,93 para 18,81pg ml⁻¹). Durante a gestação, pôde-se observar concentrações elevadas de progesterona (36,90ng ml⁻¹), havendo declínio apenas no terço final (4,10ng ml⁻¹), quando também pôde ser notada, por um momento, ligeira elevação das concentrações médias de 17 β -estradiol (2,46pg ml⁻¹). O aumento do cortisol sérico foi notado na última semana da gestação havendo, antes disso, alterações significativas ($P < 0,05$) nas concentrações séricas baseadas nos padrões descritos em literatura. No pós-parto imediato, a redução do cortisol sérico (6,52ng ml⁻¹) foi considerada relevante de acordo com as concentrações detectadas na última semana da gestação (22,27ng ml⁻¹). A progesterona esteve mantida em níveis basais no pós-parto imediato (<1ng ml⁻¹).

Palavras-chave: cadelas, gestação, progesterona, estradiol, cortisol.

ABSTRACT

In this study, seven adult crossbred bitches, copulated with healthy dog after andrologic exam, with the

objective of studying progesterone and estradiol 17- β serum concentrations during late proestrus, estrus and pregnancy. During the phases, except on late proestrus, mean cortisol levels were measured. Vaginal cytology was used to indicate the interval to submit the bitch to mate, based on the presence of superficial cells into the smears. By the results, serum progesterone concentrations were reduced in late proestrus, reaching gradually ascending levels during estrus up to 36.90ng ml⁻¹ in mid gestation; in late gestation, levels around 4ng ml⁻¹. Serum estradiol was high in late proestrus (18.81pg ml⁻¹) but decreased in estrus (1.57pg ml⁻¹). In late pregnancy estradiol levels were reduced behind the limits of detection, probably because of the laboratory methods. Elevations in maternal cortisol levels were seen prepartum (22.27ng ml⁻¹), releasing after whelping (6.52ng ml⁻¹), when progesterone had maintained basal levels.

Key words: bitches, pregnancy, progesterone, estradiol, cortisol.

INTRODUÇÃO

O ciclo estral caracteriza-se por modificações cíclicas que ocorrem nas fêmeas domésticas após a puberdade, sendo definido como ritmo funcional do aparelho reprodutor feminino, regulado por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos, principalmente aqueles referentes à secreção hormonal ovariana (HAFEZ, 1995). As fases do ciclo estral da cadela compreendem próestro, estro, diestro e anestro. O próestro tem duração média de 9 dias, podendo variar de 3 a 17 dias, sendo este o período em que a fêmea torna-se sexualmente atraente, mas não permite a cópula (CHRISTIANSEN, 1984;

¹Médico Veterinário, Aluno do Programa de Pós-graduação (Doutorado) em Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP. E-Mail: ahbb@terra.com.br. Rua Nossa Senhora de Fátima, 740, 14701-150, Bebedouro, SP. Autor para correspondência.

²Professor Adjunto, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, FCAV, UNESP-Jaboticabal.

³Professor Titular, Departamento de Ciências Exatas, FCAV, UNESP-Jaboticabal.

ETTINGER, 1992; NELSON & COUTO, 1992). Já foi registrado, segundo CHRISTIANSEN (1984), duração de 27 dias no próestro, estando a fêmea com condições reprodutivas normais.

O período de estro clínico inicia-se com a receptividade ao macho, tendo duração média de 8-9 dias (ALLEN, 1995), com variação de 4 a 24 dias (JOHNSTON et al., 2001). A ovulação ocorre, com frequência, 1 a 3 dias após a primeira receptividade (CHRISTIANSEN, 1984). O declínio das concentrações de estradiol, com o aumento concomitante das concentrações de progesterona dá início à elevação sérica do hormônio luteinizante (LH). Quando a concentração máxima é alcançada, momento definido como pico de LH, segue-se a ovulação 24 a 48 horas ou até mesmo 96 horas após a ocorrência do referido pico (FELDMAN & NELSON, 1996). O diestro inicia-se após a última receptividade ao macho, e persiste até que o endométrio se regenere completamente, tendo duração de 80-155 dias (CHRISTIANSEN, 1984). Por anestro, compreende-se o período fisiológico de “quiescência” hipofisária e ovariana, entre o final do diestro ou prenhez até o início do próximo próestro, tendo duração média de quatro meses e meio, a qual varia segundo raça, saúde, idade, época do ano e outros fenômenos (FELDMAN & NELSON, 1996).

A citologia vaginal esfoliativa é um parâmetro de diagnóstico bastante confiável aos estudos da reprodução em cadelas, em virtude de sua importância no monitoramento reprodutivo dos animais. A técnica é usada em associação à observação dos sinais clínicos, para determinação das fases do ciclo estral, visando a detecção do momento ideal para cópula ou realização de inseminação artificial (VANNUCCHI et al., 1997). O epitélio vaginal é classificado histologicamente como estratificado pavimentoso, sendo particularmente sensível às alterações hormonais, em especial à ação do estrógeno (MIALOT, 1984).

As referências bibliográficas diferem sobre a concentração de hormônios no sangue da cadela, o que pode ser explicado pelas diferenças nas amostras investigadas (plasma ou soro), por preparações diferentes (com ou sem separação cromatológica) ou por diferenças nos métodos bioquímicos empregados (radioensaio ou ligação protéica) na mensuração. As variações podem também ser atribuídas a diferenças raciais, ao número de óvulos liberados por animal ou à idade (CHRISTIANSEN, 1984). JOHNSTON et al. (2001) citam também variações diurnas, principalmente progesterônicas, sendo os níveis detectados em um estudo duas vezes maiores pela manhã do que os observados à tarde.

O 17 β -estradiol é o estrógeno biologicamente ativo produzido pelo ovário apresentando controle, através do hipotálamo, sobre a liberação dos hormônios folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH). Durante a gestação, age no útero aumentando a massa do endométrio e do miométrio, através da hiperplasia e hipertrofia celular (HAFEZ, 1995), que também levam ao espessamento da mucosa vaginal, determinando as alterações que ocorrem no próestro, como corrimento vaginal, edema vulvar e produção de feromônios (ALLEN, 1995). O aumento gradativo das concentrações de estradiol durante a gestação causa, além do crescimento do miométrio, síntese de actinmiosina (substância contrátil essencial do músculo) e, conseqüentemente, durante os últimos dias e horas de gestação, associado ao declínio dos valores de progesterona, aumenta a contratilidade uterina. Causa também, associado à relaxina, relaxamento dos canais cervical e vaginal durante o parto, favorecendo a expulsão do feto (McDONALD & PINEDA, 1989). Segundo CONCANNON et al. (1989), a presença de estrógeno durante a gestação, em condições fisiológicas normais, pode contribuir para a síntese ou disponibilidade de receptores intracelulares para progesterona.

A concentração média basal do 17 β -estradiol na gestação encontra-se entre 5 e 15pg ml⁻¹, elevando-se gradativamente até o início do parto, podendo chegar a 50pg ml⁻¹, sendo este aumento gradativo concomitante com a redução da produção de progesterona pelo corpo lúteo (FELDMAN & NELSON, 1996). CUPPS (1991) descreve, ainda, concentrações séricas de 40-110pg ml⁻¹ no final do próestro e 40-80pg ml⁻¹ no início do estro; ao término do estro e durante todo o diestro relata valores de 10-30pg ml⁻¹, com flutuações verificadas no anestro (5-30ng ml⁻¹). CONCANNON et al. (1989) descrevem que os valores de estradiol encontrados durante a segunda metade da gestação não diferem daqueles mensurados durante a fase lútea de um ciclo não-gestacional.

A progesterona apresenta concentração basal na ordem de 1ng ml⁻¹, precedente ao pico pré-ovulatório de LH. Este valor quase que triplica já no primeiro dia após a ovulação, elevando-se para cerca de 10ng ml⁻¹ durante o estro e permanecendo em torno de 22ng ml⁻¹ durante o diestro, voltando para os valores basais em 61-65 dias na fêmea prenhe e 51-82 dias naquelas não prenhes (BURKE, 1991). JOHNSTON et al. (2001) observaram concentrações plasmáticas deste hormônio inferiores a 2ng ml⁻¹, 36 a 48 horas antes do parto.

JOHNSTON et al. (2001) relatam que os valores progesterônicos podem chegar a 15-90ng ml⁻¹

aos 15-30 dias após o pico pré-ovulatório de LH e que, posteriormente, são similares para fêmeas prenhes e não-prenhes e para cadelas ovariohisterectomizadas. Justamente pela similaridade no comportamento hormonal progesterônico também na pseudoprenhez, não se poderia pensar em usá-lo como auxílio diagnóstico (CHAKRABORTY, 1987; BURKE, 1991).

A partir do 4º dia que antecede o parto, inicia-se o declínio acelerado de progesterona e elevam-se as concentrações séricas de estradiol e de cortisol, concomitante com aumento da prostaglandina F2 α , auxiliando nas contrações uterinas e posterior relaxamento do canal do parto através da estimulação da produção de ocitocina pela hipófise. O aumento dos valores de cortisol, além da expulsão fetal, também contribui para a produção de surfactantes, que auxiliam na respiração neonatal e no preparo para a vida extra-uterina (McDONALD & PINEDA, 1989; CUPPS, 1991; FELDMAN & NELSON, 1996).

As concentrações do cortisol materno mantêm-se dentro dos padrões básicos (15-25ng ml⁻¹) durante a prenhez; na última semana, elevam-se para 40-80ng ml⁻¹, reduzindo-se para 10-25ng ml⁻¹ no momento do parto. O abrupto declínio no cortisol e prolactina imediatamente após o parto parece refletir a perda do estímulo feto-placentário, logo após a qual se observa aumento secundário na prolactina devido ao estímulo da amamentação (CONCANNON et al., 1977). A ausência ou diminuição da produção de cortisol pela(s) adrenal(ais) do feto, devido à hipoplasia ou aplasia hipofisária, pode levar a gestações prolongadas, sendo o fato observado em experimentos executados com vacas e ovelhas (McDONALD & PINEDA, 1989).

BECKER (1989) descreve a dosagem de cortisol no plasma canino sem correlacioná-lo com as fases do ciclo estral, através de radioimunoensaio, como estando entre 9,4 e 37,0ng ml⁻¹ (média de 23,2).

MATERIAL E MÉTODOS

A parte experimental desta pesquisa, bem como a coleta do material, foi realizada nas dependências do Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel", mais especificamente no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - Campus de Jaboticabal. Foram utilizadas 7 fêmeas da espécie canina clinicamente sadias, adultas (dois a seis anos de idade), sem raça definida, com 10 a 15 quilogramas de peso corpóreo, providas de cuidados médicos e profiláticos convencionais.

Baseadas no exame clínico e na citologia vaginal esfoliativa as coletas de sangue para dosagens

de 17 β -estradiol e progesterona foram feitas durante o final do próestro, estro e durante o diestro gestacional, obtendo-se duas amostras para cada mensuração. No próestro e estro as coletas foram feitas a cada 24 horas, e a cada 48 horas no diestro gestacional, sendo obtidas amostras em duas ocasiões no pós-parto imediato, com intervalo de 24 horas. Para mensurações séricas de cortisol as amostras foram coletadas apenas durante o estro, a prenhez e no pós-parto imediato, obedecendo-se aos mesmos critérios da progesterona e do estradiol. As amostras para citologia vaginal esfoliativa foram obtidas conforme a técnica de coleta com swab estéril, com material corado em lâmina pelo método de Shorr (MIALOT, 1984; VANNUCHI et al., 1997), durante as várias fases do ciclo estral; não foram feitas análises durante o diestro gestacional das cadelas avaliadas.

O sangue foi coletado sempre no período matutino, pela punção da veia cefálica ou jugular após anti-sepsia com solução de álcool iodado, utilizando seringas descartáveis de 10ml e agulhas hipodérmicas 25 x 7, esterilizadas, sendo colocado em frasco também esterilizado, sem anticoagulante, e levado ao laboratório, onde foi mantido em "banho-maria" durante dez a quinze minutos antes da centrifugação. A centrifugação foi a 1500 gramas por cinco minutos, e o soro separado em duas porções iguais. As amostras foram estocadas a -20°C, até o momento das análises serem efetuadas.

As concentrações plasmáticas de 17 β -estradiol, progesterona e cortisol foram mensuradas pelo método de radioimunoensaio (RIA), utilizando-se conjuntos de reagentes comerciais Coat-a-Count da DPC®, de acordo com ENGLAND & VERSTEGEN (1996). A avaliação quantitativa dos hormônios foi realizada sem qualquer tipo de extração química ou processo de purificação, valendo-se do I¹²⁵ como elemento radioativo traçador. As análises foram efetuadas no Departamento de Fisiologia e Morfologia da FCAVJ-UNESP.

Os resultados foram analisados estatisticamente, segundo delineamento inteiramente casualizado num esquema de parcelas subdivididas, tendo como parcela a substância (hormônio) e como subparcela a fase (período da prenhez). Havendo diferença significativa entre as fases pelo Teste F, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS

Os resultados referentes às dosagens séricas de progesterona e 17 β -estradiol de acordo

com os dias de prenhez, iniciando-se no final do próestro, estão demonstrados nas figuras a seguir. Aqueles relativos às dosagens de cortisol são demonstrados, porém iniciando-se no período de estro. Considera-se em todas as figuras (1-4) o dia 0 como o primeiro dia em que houve cruzamento - tendo sido este o primeiro momento de aceitação do macho -, e os 60 dias como momento do parto. A figura 4 ilustra em conjunto as concentrações séricas médias de progesterona, 17β -estradiol e cortisol obtidas neste estudo.

A citologia vaginal esfoliativa, avaliada conjuntamente às manifestações clínicas, permitiu diferenciar as fases do ciclo estral, em especial nas cadelas em que não se conhecia o histórico dos ciclos estrais anteriores. No estro, células superficiais queratinizadas foram visibilizadas em predominância nas lâminas analisadas, raramente sendo observados os demais tipos celulares. Assim sendo, as cadelas monitoradas foram levadas para tentativa de cópula, em dias alternados, até o momento de não mais receptividade ao macho.

Na figura 1, pode-se observar valores séricos de progesterona mais elevados a partir do 10º até o 30º dia de prenhez, com valores superiores a 25ng ml^{-1} , considerados compatíveis com os fisiológicos descritos para o período em questão; os mesmos se mantiveram em concentrações basais ($<1\text{ng ml}^{-1}$) no pós-parto imediato. Concentrações crescentes de progesterona foram observadas do

próestro ($2,85\text{ng ml}^{-1}$) em direção ao estro ($5,20\text{ng ml}^{-1}$) e no terço médio da prenhez ($36,90\text{ng ml}^{-1}$), declinando ao final da gestação ($4,10\text{ng ml}^{-1}$) e no pós-parto imediato ($<1\text{ng ml}^{-1}$). Observou-se também que concentrações médias de progesterona elevando-se discretamente no final do próestro (de $1,56$ para $2,85\text{ng ml}^{-1}$) foram concomitantes com o início do declínio das concentrações de estradiol (de $20,93$ para $18,81\text{pg ml}^{-1}$) no mesmo período (Figura 4).

Os valores médios de 17β -estradiol no final do próestro ($18,81\text{pg ml}^{-1}$) mostraram-se mais elevados ($P<0,05$) quando comparados com os obtidos no estro ($1,57\text{pg ml}^{-1}$) e no terço médio da gestação ($6,23\text{pg ml}^{-1}$). Alguns dos resultados verificados da metade para o final da gestação não foram descritos pois algumas amostras não se apresentaram com concentrações séricas detectáveis durante a leitura ou não representaram valores precisos; o método utilizado não permitiu quantificação deste hormônio.

Os valores médios de cortisol obtidos durante o período analisado, demonstraram oscilações durante as várias fases (Figura 3). Foi observada diferença estatística significativa ($P<0,05$) quando valores obtidos no estro ($18,55\text{ng ml}^{-1}$) e no terço médio da prenhez ($15,81\text{ng ml}^{-1}$) foram comparados com os obtidos no pós-parto imediato ($6,52\text{ng ml}^{-1}$). Vale salientar que as concentrações séricas de cortisol estão elevadas pouco antes do parto ($22,2\text{ng ml}^{-1}$).

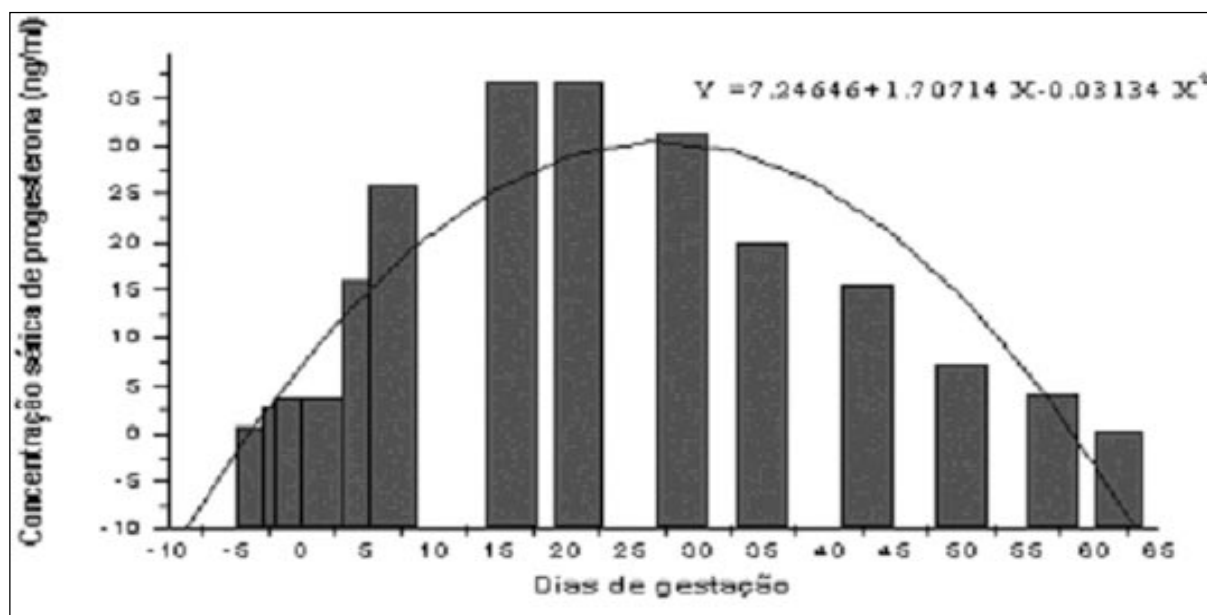


Figura 1 - Demonstração das concentrações séricas médias de progesterona durante o final do próestro, estro, gestação e pós-parto imediato das cadelas.

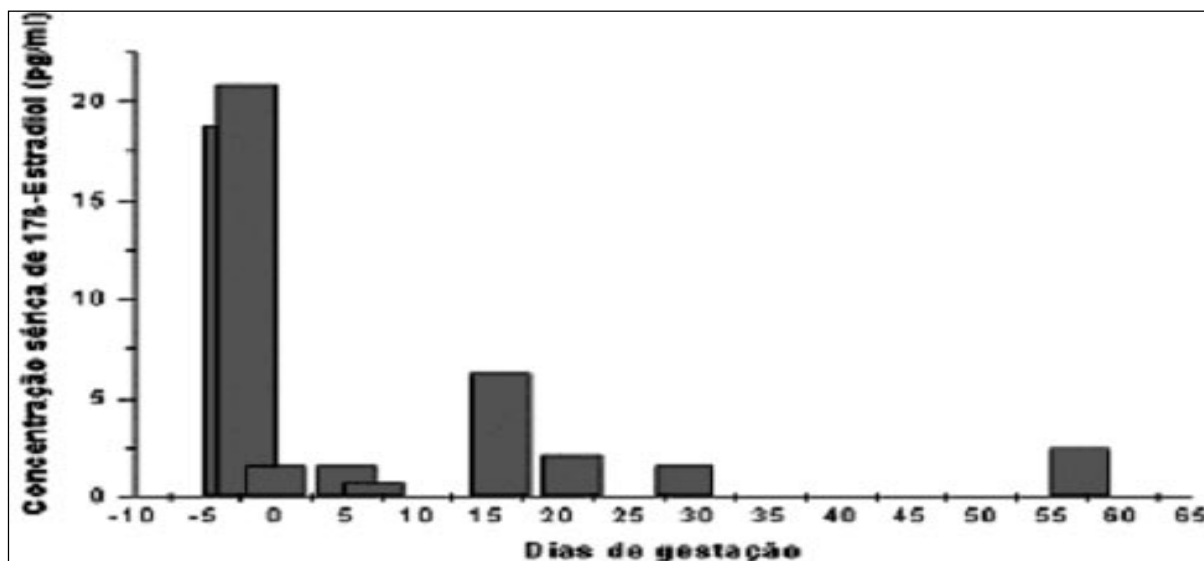


Figura 2 - Demonstração das concentrações séricas médias de 17β-estradiol durante o final do próestro, estro, gestação e pós-parto imediato das cadelas.

DISCUSSÃO

Com relação às concentrações de progesterona obtidas no final do próestro e início do estro ($2,85 \text{ ng ml}^{-1}$), durante o estro ($5,2 \text{ ng ml}^{-1}$), no final da prenhez ($4,10 \text{ ng/ml}$) e no pós-parto imediato ($<1,0 \text{ ng ml}^{-1}$), mostradas na figura 1, os valores foram considerados compatíveis com os achados descritos na literatura consultada (CONCANNON et al., 1989; FELDMAN & NELSON, 1996; JOHNSTON et al., 2001) para os mesmos períodos.

As concentrações de progesterona obtidas durante o terço médio da prenhez ($36,9 \text{ ng ml}^{-1}$), às quatro semanas, embora elevadas em compatibilidade com o período em questão, foram consideravelmente inferiores aos limites máximos dos valores descritos pela literatura consultada. JOHNSTON et al. (2001) relatam valores que podem chegar a 90 ng/ml^{-1} em torno de 30 dias após o pico pré-ovulatório de LH. Vale salientar, contudo, as justificativas feitas por CHRISTIANSEN (1984) sobre as variações existentes a respeito do conteúdo hormonal em cadelas como,

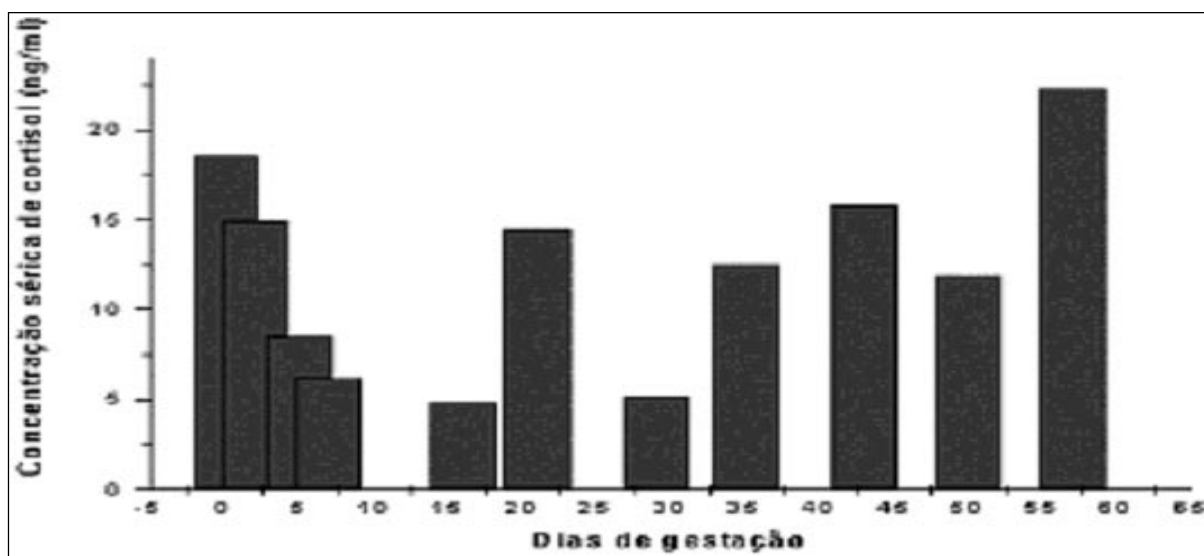


Figura 3 - Demonstração das concentrações séricas médias de cortisol obtidas durante o diestro gestacional e no pós-parto imediato nas cadelas.

por exemplo, diferenças nas amostras investigadas (soro ou plasma) e nos métodos bioquímicos empregados (RIA ou ELISA).

A influência do ritmo circadiano sobre os hormônios na cadela foi descrita na literatura consultada apenas para progesterona, por JOHNSTON et al. (2001), não tendo sido encontrados relatos sobre estradiol. STEINETZ et al. (1990) mostraram valores progesterônicos encontrados na prenhez mais elevados pela manhã do que os observados à tarde; estas mesmas diferenças não foram detectadas nas análises de estradiol, relaxina e prolactina. Ainda assim, neste trabalho, todas as coletas foram realizadas no período matutino, visando-se às análises dos três hormônios aqui estudados.

As concentrações progesterônicas detectadas durante o início do diestro não foram avaliadas para fins de diagnóstico gestacional visto que, como afirmado por BURKE (1991), os valores podem ser similares nas fêmeas prenhes e nas pseudoprenhes, inclusive se as coletas forem feitas após 40 dias de gestação.

Assim como citado por FELDMAN & NELSON (1996), foi possível no presente estudo observar, do final do próestro para o início do estro, que o aumento gradativo das concentrações de progesterona foi concomitante com o decréscimo de estradiol (18,81 e 1,57pg ml⁻¹, respectivamente). As concentrações de 17β-estradiol obtidas em todos os períodos analisados foram consideravelmente inferiores às descritas na literatura, em especial no terço final da prenhez, quando alguns valores não puderam

ser detectados, o que pode ter sido determinado pela margem mínima de detecção hormonal da substância padrão utilizada no método laboratorial empregado, padronizada para valores superiores aos que foram encontrados. Cabe ressaltar que, por um momento, pôde ser notada concentração estrogênica (5,80pg ml⁻¹), no terço médio da prenhez, ligeiramente acima dos valores descritos como basais retornando, em seguida, para níveis bastante inferiores (Figura 2).

Como já descrito por CHRISTIANSEN (1984), as amostras também poderiam ter sido investigadas utilizando-se plasma e não soro, o que pode ser sugerido para futuras investigações científicas, visando-se obter resultados das concentrações estrogênicas durante o diestro gestacional na espécie canina, que possam ser altamente confiáveis. Quanto ao método bioquímico empregado, em comparação com métodos de quimioluminescência, o radioimunoensaio é considerado, segundo bibliografia consultada (McDONALD & PINEDA, 1989; ARBEITER et al., 1991), o mais acurado para a mensuração dos hormônios citados.

Com relação ao cortisol, o único relato encontrado na literatura consultada foi correlacionando os valores séricos com os períodos da gestação em fêmeas caninas (CONCANNON et al., 1989), não sendo mostrados valores em próestro e estro. Com isso, ressalta-se a importância das mensurações obtidas no presente trabalho, podendo contribuir para futuros estudos mais abrangentes sobre a atuação do cortisol na gestação de cadelas.

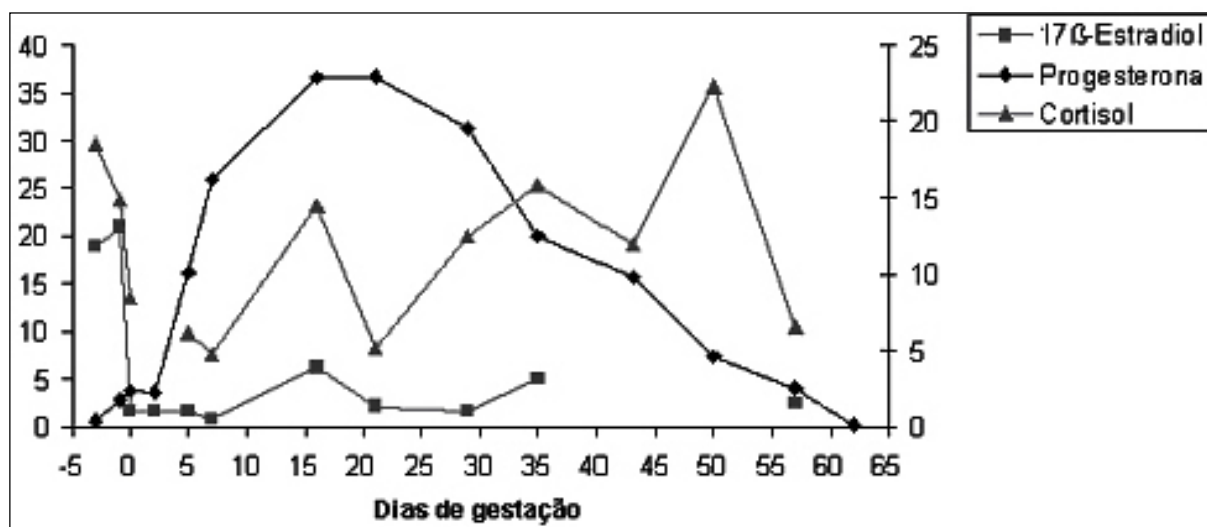


Figura 4 - Demonstração das concentrações séricas médias de progesterona, 17β-estradiol e cortisol durante final de próestro, estro e gestação das cadelas.

podendo contribuir para futuros estudos mais abrangentes sobre a atuação do cortisol na gestação de cadelas.

McDONALD & PINEDA (1989) explicaram a importância do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal fetal em ovelhas, afirmando que as elevações do cortisol sérico nas últimas horas anteriores ao parto são concomitantes com as elevações de estradiol e PGF2α e com o declínio dos valores de progesterona. Este mecanismo, embora ainda pouco estudado em cadelas, pôde ser indiretamente analisado no presente estudo, onde foram observadas semelhantes alterações no pré-parto, relacionadas aos hormônios aqui mensurados. O fotoperiodismo e outros prováveis fatores influentes nas variações do cortisol sérico como, por exemplo, alimentação anterior às colheitas, foram mostrados por LUNGU (1987) e McDONALD & PINEDA (1989) em ovelhas e porcas, não tendo sido encontrados relatos em cadelas.

Fazendo inferência novamente ao estradiol, como anteriormente citado, na última semana da gestação houve uma seqüência de valores baixos não-detectáveis pelo método empregado; porém, foi possível uma única detecção próxima ao parto (2,46pg ml⁻¹), permitindo dizer que esses valores, embora abaixo dos descritos de até 50pg ml⁻¹, segundo FELDMAN & NELSON (1996), são importantes para preparar a cadela para o parto, com concomitante queda dos valores séricos de progesterona (4,10ng ml⁻¹) (Figura 4).

Salienta-se também que, assim como as concentrações estrogênicas já mencionadas, os valores de cortisol mensurados nas amostras investigadas (Figura 3), foram inferiores aos poucos já descritos, porém, puderam mostrar com clareza a elevação ocorrida no pré-parto (22,27ng ml⁻¹) e o declínio no pós-parto imediato (6,52ng ml⁻¹), esclarecendo as atuações fisiológicas do hormônio sobre o estímulo do trabalho de parto, descritas por CUPPS (1991).

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, é possível concluir que: a) as concentrações de progesterona são crescentes no início do estro e máximas na conclusão do terço inicial da prenhez; b) as concentrações de 17 β-estradiol são elevadas no final do proestro e baixas durante toda a prenhez, com pequeno aumento detectado no terço final; c) as concentrações séricas de cortisol apresentam elevação no pré-parto e acentuada queda no pós-parto imediato.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos Doutores Francisco Guilherme Leite, Joaquim Mansano Garcia e Benedito Dias de Oliveira Filho pelas sugestões dadas durante a execução e escrita do trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, W.E. **Fertilidade e obstetrícia no cão**. São Paulo: Varela, 1995. Cap.3, 197p.
- ARBEITER, K. et al. Indirect detection of ovulation and fertilization in the dog by progesterone level testing. **Zentralbl Veterinarmed**, v.38, n.9, p.696-701, 1991.
- BECKER, T. **Veterinary endocrinology and reproduction**. Philadelphia : Lea & Febiger, 1989. 210p.
- BURKE, T.J. Small animal reproduction and fertility. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9., 1991, Belo Horizonte. **Anais...** Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1991. V.2, p.108-110.
- CHAKRABORTY, P.K. Reproductive hormone concentrations during estrus, pregnancy and pseudopregnancy in the Labrador bitch. **Theriogenology**, v.27, n.6, p.827-840, 1987.
- CHRISTIANSEN, I.J. **Reproduction in the dog & cat**. São Paulo : Bailliere Trindall, 1984. Cap.7, p.154-170.
- CONCANNON, P.W.; McCANN, J.P; TEMPLE, M. Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. **J Reprod Fertil**, Suppl.39, p.3-25, 1989.
- CONCANNON, P.W. et al. Pregnancy and parturition in the bitch. **Biol Reprod**, v.16, p.517-526, 1977.
- CUPPS, P.T. **Reproduction in domestic animals**. 4.ed. San Diego : Academic, 1991. Cap.16, p.522-525.
- ENGLAND, G.C.W.; VERSTEGEN, J.P. Prediction of parturition in the bitch using semi-quantitative ELISA measurement of plasma progesterone concentration. **Vet Rec**, v.139, p.496-497, 1996.
- ETTINGER, S.J. **Tratado de medicina interna veterinária**. 3.ed. São Paulo : Manole, 1992. V.4, p.1877-1885.
- ELDMAN, E.D.; NELSON, R.W. **Canine and feline endocrinology and reproduction**. Philadelphia : Saunders, 1996. Cap.18, p.547-571.
- HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal**. 6.ed. São Paulo : Manole, 1995. Cap.4, p.95-125.
- JOHNSTON, S.D.; KUSTRITZ, M.V.R.; OLSON, P.N.S. **Canine and feline theriogenology**. Philadelphia : Saunders, 2001. p.19-104.
- LUNGU, J.C.N. The effect of time of feeding on parturition and on steroid profiles during the last month of pregnancy in the ewe. **Diss Abstr Int**, v.9, p.3669, 1987.
- McDONALD, L.E.; PINEDA, M.H. **Veterinary endocrinology and reproduction**. 4.ed. Philadelphia : Lea & Febiger, 1989. Cap.18, 571p.

MIALOT, J.P. Patologia da reprodução dos carnívoros domésticos. **A Hora Vet**, v.4, p.17-27, 1984.

NELSON, R.W., COUTO, C.G. **Fundamentos da medicina interna de pequenos animais**. Rio de Janeiro : Guanabara & Koogan, 1992. Cap.55, 737p.

FSTEINETZ, B.G. et al. Diurnal variation of serum

progesterone, but not relaxin, prolactin or estradiol-17 β in the pregnant bitch. **Endocrinology**, v.127, n.3, p.1057-1063, 1990.

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