

Monitorização do ciclo éstrico da cadela para inseminação artificial ou cruzamento¹

Alves, I., Mateus, M., Lopes da Costa, L.

Serviço de Reprodução, CIISA/Faculdade de Medicina Veterinária, Rua Prof. Cid dos Santos, Pólo Universitário, Alto da Ajuda, 1300-477 Lisboa, Portugal

Introdução

A cadela é uma fêmea monoéstrica, isto é, exibe apenas um ciclo éstrico por época reprodutiva. O número anual de épocas reprodutivas depende sobretudo do genótipo (raça), variando entre 1 a 3 (em média 2). Isto significa que não ocorrendo gestação num ciclo, aquela só poderá potencialmente ocorrer na próxima época reprodutiva (6 meses a 1 ano depois). Tendo em conta que em algumas raças mais corpulentas a maturidade sexual é atingida tardiamente (1,5 a 2 anos de vida) e que a grande maioria das associações de raça e clubes caninos limita o registo das ninhadas a cadelas até aos 7-8 anos de vida, o número de oportunidades de concepção é reduzido em comparação com outras fêmeas domésticas.

O ciclo éstrico da cadela compreende as três fases características – pró-estro, estro e diestro – às quais se segue um período de inactividade funcional ovárica – o anestro. A variação individual e entre raças na duração do intervalo entre ciclos éstricos é sobretudo devida à variação na duração do anestro (40 a 270 dias, em média 120 dias) e em menor grau do diestro ou fase lútea (60 a 90 dias, em média 65 dias). No entanto é na variação individual da duração do pró-estro (2 a 15 dias, em média 9 dias) e estro (3 a 12 dias, em média 10 dias) que reside o maior obstáculo à adopção de um método normalizado para o cruzamento ou inseminação artificial (IA) com perspectivas de boa fertilidade.

O início do ciclo éstrico – pró-estro – é marcado pelo aparecimento do corrimento vulvar sanguinolento. Em contraste, o início do estro só é detectável clinicamente pela mudança de comportamento em relação ao macho (aceitação, reflexo de tolerância), embora em certas fêmeas e em certos emparelhamentos possa nunca ser observada aceitação do macho ou, pelo contrário, em certas fêmeas mais submissas poder ocorrer a aceitação do macho mesmo fora do período de estro. Por outro lado, o início do período fértil, que ocorre durante o estro, pode variar consideravelmente entre cadelas, em relação ao início do pró-estro ou estro. A detecção do momento do início do período fértil e a sua duração em cada cadela individual é pois um factor determinante para a obtenção de um cruzamento ou IA fértil. Este facto é realçado quando por razões logísticas ou económicas apenas é possível um único cruzamento ou IA, ou quando se utilizam machos sub-férteis ou sémen conservado (refrigerado ou congelado) que apresentam perspectivas de menor fertilidade.

Actualmente, a determinação do momento do início e duração do período fértil da cadela é feita por rotina em casos de expedição da fêmea para cruzamento ou IA, de utilização de sémen conservado (em particular congelado), ou em cadelas ou emparelhamentos em que a observação de sinais comportamentais de estro não é possível. Para além da determinação do início e duração do período

¹ Texto incluindo os fundamentos teóricos do workshop prático no âmbito do Congresso de Ciências Veterinárias da SPCV.

fértil, a monitorização do ciclo éstrico apresenta outras indicações, entre as quais se incluem a determinação do primeiro dia do diestro para ulterior determinação do momento do parto (para indução do parto ou cesareana electiva em gestações de risco), a determinação do momento ideal para iniciar um tratamento anti-concepcional, o diagnóstico de patologia endócrina (adrenal/ovárica) e a monitorização da resposta à terapêutica.

O período fértil na cadela

Cerca de um mês antes do início do pró-estro ocorre uma ligeira elevação da concentração de estrogéneos circulantes, responsáveis por uma ligeira poliaquiúria (destinada a aumentar a difusão de feromonas). O subsequente aumento significativo da concentração sérica de estrogéneos, produzidos pelos folículos em crescimento, conduz ao aparecimento dos sinais característicos do pró-estro: corrimento vulvar sanguinolento, edema da vulva, edema das pregas vaginais, espessamento da mucosa vaginal e sua queratinização. A concentração sérica de estrogéneos atinge o seu pico no final do pró-estro, estimulando a libertação de LH e a subsequente ovulação (Figura 1).

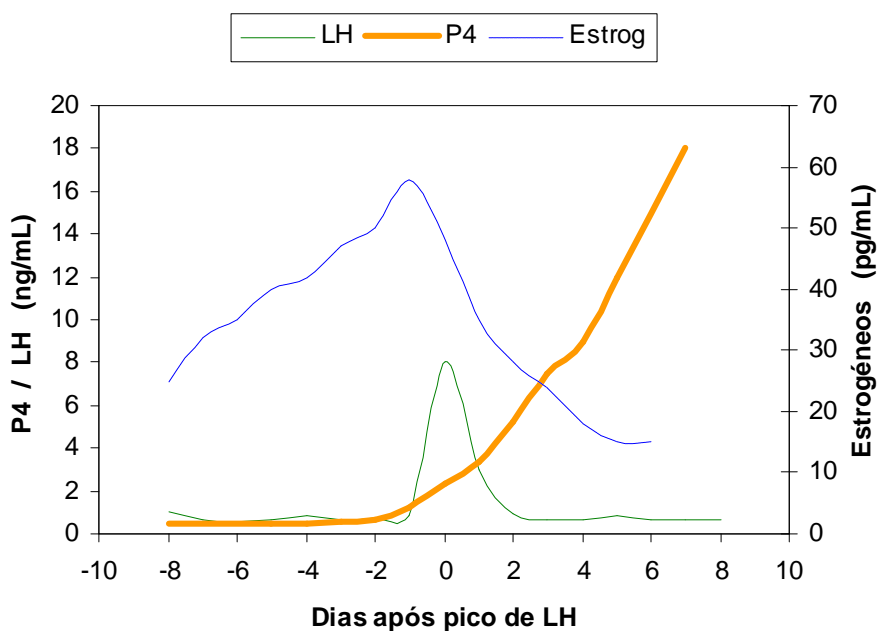


Figura 1. Variação das concentrações plasmáticas de estrogéneos, LH e progesterona (P4) durante o pró-estro e estro na cadela (adaptado de Concannon *et al.*, 1975).

O pico das concentrações plasmáticas de LH (que toma valores entre 7 e 50 ng/mL) ocorre normalmente no primeiro dia do estro (último dia do pró-estro aos dois primeiros dias do estro) e dura apenas 24 a 40 h, retornando de imediato aos níveis basais (< 1 ng/mL). A ovulação ocorre cerca de 48 h após o pico de LH e dura menos de 24 h. A concentração plasmática de progesterona (P4) começa a subir gradualmente no fim do pró-estro (coincidindo com a queda no teor de estrogéneos), devido à luteinização pré-ovulatória das células foliculares e aumenta de forma muito marcada após a ovulação. A relação entre as concentrações plasmáticas de P4 e a evolução da fase folicular (pró-estro e estro) na cadela é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Relação entre as concentrações plasmáticas de P4 e a evolução da fase folicular (pró-estro e estro) na cadela. (Adaptado de Root Kustritz, 2001).

P4 (ng/mL)	Significado
< 1.0	Anestro ou pró-estro
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 - 10.0	Ovulação
> 10.0	Após a ovulação

Na cadela, os gâmetas são ovulados no estadio de oócito primário, necessitando de 2-3 dias de maturação, no oviducto, até atingir o estadio de oócito secundário apto a ser fertilizado. A viabilidade dos oócitos maturados não é bem conhecida, mas provavelmente não excederá 24-48 horas. Por esta razão, o período fértil da cadela situa-se entre os dias 2 e 5 após a ovulação (dias 4 e 7 após o pico de LH), devendo neste momento estar presente nos reservatórios do tracto genital feminino uma população competente de espermatozóides (SPZ).

A viabilidade dos SPZ no tracto genital feminino é variável mas normalmente de cerca de 3-5 dias (até 11 dias) em machos férteis. Desta forma, no caso de emparelhamentos com progenitores férteis, cruzados regularmente durante o estro, as expectativas de fertilidade (70 % - 90 %) e de prolificidade (consoante a raça) são boas. No entanto, se é realizado apenas um cruzamento e o macho é sub-fértil ou o ciclo da cadela desvia significativamente da média, a fertilidade e a prolificidade podem ser séria e negativamente afectadas. Também a utilização de sémen conservado, especialmente no caso de sémen descongelado, que tem um tempo de sobrevivência no tracto genital feminino reduzido (24 horas ou menos), implica a sincronização da IA com o período de máxima fertilidade da cadela.

Determinação do período fértil na cadela

A determinação do início e duração do período fértil recorre a meios complementares de diagnóstico que incluem a determinação da chave celular (citologia vaginal), obtida a partir de um esfregaço por aposição de uma zaragatoa vaginal, e a determinação das concentrações circulantes (séricas ou plasmáticas) da hormona luteinizante (LH) e/ou da progesterona (P4).

Citologia vaginal

O início da fase de estro pode ser razoavelmente determinado recorrendo à citologia vaginal, a qual se baseia nas alterações quantitativas e qualitativas da chave celular. A mucosa vaginal e as células epiteliais vaginais sofrem alterações morfológicas sob a acção das concentrações crescentes de estrogénios. Estes estimulam a proliferação do epitélio vaginal, que passa de uma espessura de

poucas camadas celulares no anestro para uma espessura de 20 a 30 (até 100-150) camadas de células no fim do pró-estro. O afastamento das células epiteliais da membrana basal epitelial enceta um processo degenerativo de morte celular associado a queratinização (cornificação) citoplasmática.

A variação na percentagem de células superficiais - índice de cornificação celular – ao longo de esfregaços vaginais seriados pode ser usado na monitorização da evolução do ciclo éstrico. Em termos citológicos, considera-se que a cadela está em cio (estro) quando o esfregaço celular apresenta um índice de cornificação superior a 80 %. No entanto, a citologia vaginal não permite determinar com exactidão os momentos de ocorrência do pico de LH e da ovulação, para o que é necessário recorrer ao doseamento da LH e/ou da P4. Em termos práticos, após o início do corrimento vulvar sanguinolento realiza-se uma série de citologias vaginais seriadas até à identificação de um índice de cornificação próximo do característico do estro, momento em que se iniciam os doseamentos hormonais. A realização de citologias vaginais seriadas poderá manter-se durante o estro até à identificação do início do diestro, uma vez que não é possível distinguir, com base nas concentrações plasmáticas de P4, o momento da transição entre o estro e o diestro.

Endocrinologia

As concentrações periféricas de LH próprias do pico podem ser mensuradas no soro ou inferidas das concentrações plasmáticas de P4. Dado que o pico de LH é fugaz, devem ser colhidas amostras diariamente, mais ou menos à mesma hora. A colheita deve iniciar-se ainda durante o pró-estro (o que pode ser confirmado através da determinação da concentração de P4, que deverá ser basal, ou da citologia vaginal). Se a cadela já estiver na fase de estro médio ou tardio, o pico de LH não será detectado nem pode ser determinado retrospectivamente.

Quando forem detectadas concentrações séricas de LH (> 1 ng/mL), o doseamento de P4 mostrará um aumento gradual, atingindo um valor mínimo de 4,0 ng/mL dois a três dias depois, o que confirma a ocorrência do pico de LH. Se os níveis de P4 permanecerem baixos, isto significa que ocorreu uma flutuação pró-éstrica da LH, e o teste deve ser repetido diariamente até ser identificado o verdadeiro pico da LH. Dado o curto período de validade do teste, a necessidade de amostragem diária e a necessidade de determinar a P4 para verificar a precisão, este método tem uma utilização limitada (IA com sémen congelado).

O doseamento das concentrações plasmáticas de P4 é actualmente o método mais utilizado na determinação do período fértil na cadela, estando disponíveis no mercado vários testes semi-quantitativos rápidos. O primeiro doseamento é normalmente realizado no final do pró-estro ou início do estro, para identificar o momento da ocorrência do pico da LH. Segue-se um segundo doseamento cerca de 2-3 dias depois para identificar o momento da ovulação e, eventualmente, um terceiro cerca de 2-3 dias depois para confirmar a ocorrência da ovulação (Figura 2). O doseamento da P4 deverá ser realizado precocemente no estro, pois a identificação no primeiro doseamento de concentrações plasmáticas confirmadoras da ocorrência de ovulação não permite determinar retrospectivamente o momento da sua ocorrência e, portanto, delimitar o período fértil.

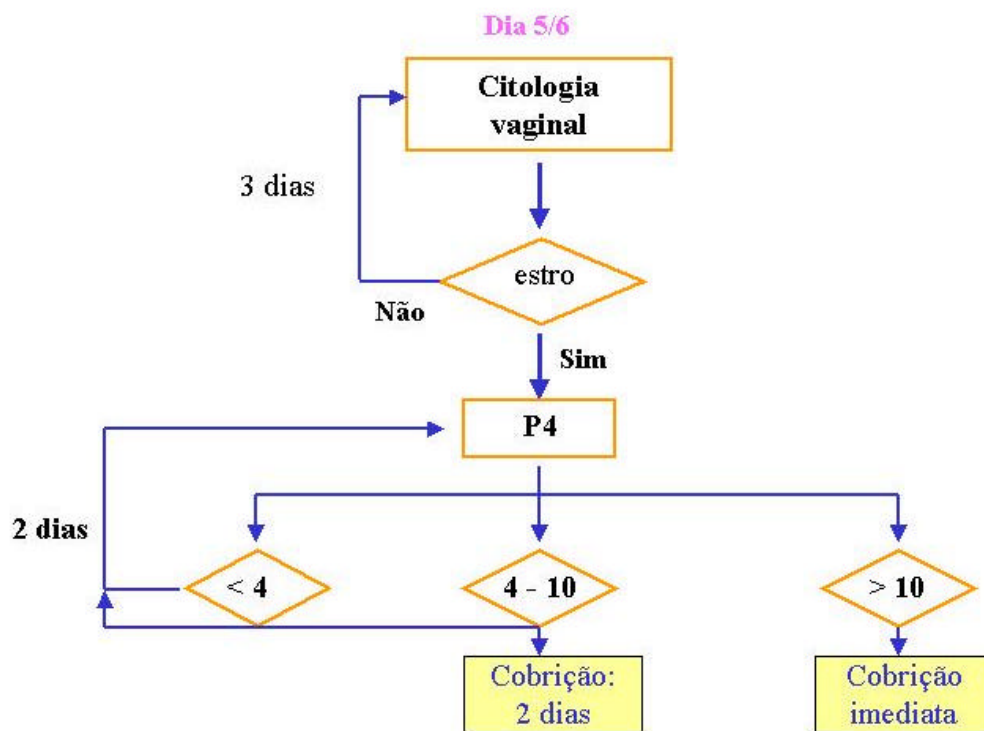


Figura 2. Fluxograma da monitorização do estro. (Concentrações de P4 em ng/mL).

A Figura 3 mostra a diversidade do padrão de evolução das concentrações plasmáticas de P4 em quatro cadelas, enfatizando as variações individuais e a necessidade da determinação do período fértil individualmente, para ter expectativas de fertilidade e de prolificidade normais.

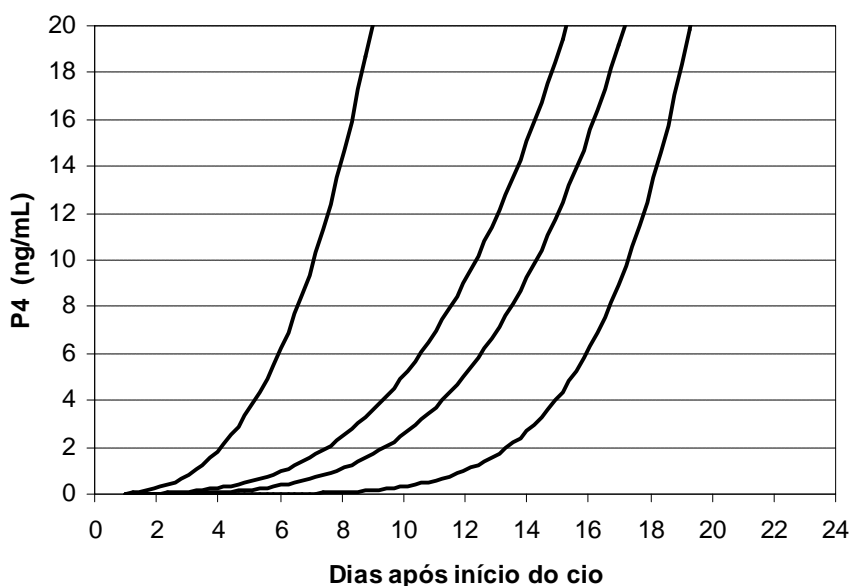


Figura 3. Evolução das concentrações plasmáticas de progesterona em quatro cadelas com diferentes padrões endócrinos. (Cadelas monitorizadas na Secção de Reprodução da FMV).

Bibliografia sugerida

Badinand F; Petit C (1998) – Quels resultants attendre de la reproduction assistée chez la chienne? *Recueil de Médecine Vétérinaire* 174 (7/8): 153 – 162.

Concannon PW, Hansel W, Visek WJ (1975) – The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH and progesterone. *Biol Reprod* 13: 112 - 121.

Concannon PW, McCann JP, Temple M (1989) – Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *J. Rep Fert Suppl* 39: 3 - 25.

Feldman FC, Nelson RW (1996). *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*, segunda edição, WB Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, USA. Capítulo 17, pp. 526-546.

Guérin, Ch (1998) – Détermination du moment de l'ovulation chez la chienne. *Recueil de Médecine Vétérinaire* 174 (7/8): 117 – 122.

Johnston SD, Root Kustritz MV (2001). *Canine and Feline Theriogenology*, primeira edição, WB Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, USA. Capítulos 2-4, pp. 16-65.

Root Kustritz MV (2001). Use of commercial luteinizing hormone and progesterone assay kits in canine breeding management. Em Concannon PW, England G, Verstegen J (Eds.), “Recent Advances in Small Animal Reproduction”, International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA.

Tsutsui T (1989) – Gamete physiology and timing of ovulation and fertilization in dogs. *J. Reprod Fert (Suppl)* 39: 269 – 275.