

Endocrinologia da gestação e parto em cadelas

Endocrinology of pregnancy and parturition in bitches

Gisele Almeida Lima da Veiga^{1,2}, Liege Cristina Garcia da Silva¹, Cristina de Fátima Lúcio¹, Jaqueline Aguiar Rodrigues¹, Camila Infantsi Vannucchi¹

¹Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

²Correspondência: gigveiga@usp.br

Resumo

Os mecanismos relacionados ao controle endócrino do período gestacional e parto em cadelas ainda não estão totalmente elucidados. Desta maneira, a presente compilação de trabalhos científicos referentes aos principais eventos durante a gestação e o parto em cadelas tem por escopo a atualização sobre a endocrinologia em tais eventos fisiológicos e a divulgação sumariada dos conhecimentos gerados a partir das pesquisas científicas na área. É de conhecimento comum que a síntese e a secreção da progesterona, originária principalmente do corpo lúteo, são de extrema importância para manutenção e conseqüente progresso da gestação. Ainda, os níveis plasmáticos desse hormônio podem ser utilizados como método para prever o momento do parto na espécie canina. Adicionalmente, a relaxina é detectada somente em cadelas gestantes, portanto sua detecção pode ser considerada um método de diagnóstico de gestação. Durante a segunda fase da gestação, observa-se liberação pulsátil de prolactina, simultaneamente ao aumento dos níveis de estrógeno. Entretanto, a influência do estrógeno no mecanismo de secreção de prolactina ainda é incerta. Por outro lado, ao final da gestação, evidencia-se queda dos níveis de progesterona e aumento dos níveis séricos de estrógeno, decorrente principalmente da ação do cortisol fetal. Tais eventos, associados à liberação de PGF2 α pelo útero, culminam com o início do parto. O aumento das contrações uterinas e a expulsão fetal ocorrem principalmente pela ação da ocitocina. Entretanto, a ação desse hormônio não requer necessariamente o aumento das concentrações plasmáticas, sugerindo haver uma ação autócrina ou parácrina da ocitocina em cadelas. Embora os estudos relacionados à endocrinologia da gestação e do parto em cadelas tenham elucidado diversas interações e padrões hormonais, tais processos ainda não estão totalmente descritos, uma vez que as cadelas apresentam particularidades reprodutivas que as diferem das demais espécies. Neste particular sentido, futuras pesquisas devem ser conduzidas para contribuir com o conhecimento técnico-científico nesta espécie.

Palavras-chave: cadela, corpo lúteo, gestação e parto

Abstract

The mechanisms related to the endocrine control of pregnancy and parturition in bitches are still unknown. Thus, this compilation of scientific articles referred to canine pregnancy and parturition aims to update on the endocrinology of the main physiological events and to disclose in a summarized manner the knowledge generated from scientific research. It is known that the synthesis and secretion of progesterone mainly originated from the corpus luteum are of utmost importance for pregnancy maintenance. In addition, plasma levels of this hormone can be employed as a method to predict the onset of parturition in bitches. Moreover, relaxin is present only in pregnant bitches; therefore its serum determination can be considered as pregnancy diagnostic method. During midgestation, it is observed a pulsatile release of prolactin simultaneously to increased levels of estrogen. However, the influence of estrogen on the mechanism of prolactin secretion remains unknown. On the other hand, decreased levels of progesterone and increased concentrations of estrogen are observed at the end of pregnancy, as a consequence of enhanced fetal cortisol synthesis. These events in association to the release of uterine PGF2 α trigger the onset of labor. The increase in uterine contractions and fetal expulsion occur mainly as an oxytocin influence. However, the action of this hormone does not necessarily require the increase in plasma concentrations, suggesting an autocrine or paracrine mechanism of action in bitches. Although studies related to canine endocrinology of pregnancy and parturition have clarified several hormonal interactions and patterns, these mechanism are not fully described, as the bitches have reproductive characteristics that differ from other species. Additional research should be undertaken in order to improve technical and scientific knowledge in this species.

Keywords: bitch, corpus luteum, pregnancy, parturition.

Introdução

A gestação e o parto constituem uma sequência de eventos representativos do ciclo reprodutivo fértil dos mamíferos. A ovulação de oócitos imaturos, a variação na competência meiótica do oócito e a viabilidade

espermática, além da indefinição do mecanismo de reconhecimento materno da gestação, são alguns fatores que, associados ao perfil endocrinológico durante a gestação e o parto, tornam o estudo da reprodução canina objeto de interesse para muitos pesquisadores. O conhecimento da síntese, secreção e ação dos hormônios durante o desenvolvimento embrionário e fetal e no mecanismo do parto é essencial para estabelecer o diagnóstico precoce de alterações e facilitar a instituição de terapia adequada que permita a manutenção e o desenvolvimento da gestação e do parto.

Principais hormônios da gestação

Endocrinologicamente, a gestação em cadelas é amparada por diferentes mecanismos de ação hormonal, controlados por meio do eixo hipotálamo-hipófise-ovariano. A liberação e o equilíbrio participativo entre diferentes hormônios, incluindo-se progesterona, prolactina, relaxina e estrógeno garantem a manutenção e a progressão da prenhez. Já o desencadeamento do parto ocorre pela ação conjunta da progesterona e do estrógeno, bem como da ocitocina (Taverne *et al.* 1979; Mitchell *et al.*, 1997).

A duração da gestação canina apresenta variação de 56 até 68 dias (± 64 dias), e tal inconstância pode ser justificada por vários fatores, tais como: viabilidade prolongada do espermatozoide no ambiente uterino, maturação oocitária de duração variável e meia-vida prolongada do oócito (Concannon *et al.*, 2001). Endocrinologicamente, o intervalo de tempo gestacional compreende 65 ± 1 dias, estabelecido a partir do pico pré-ovulatório de LH e do aumento concomitante da progesterona sérica (Kim *et al.*, 2007). De um modo geral, pode-se considerar que o parto ocorre 63 dias após a ovulação (dia 0), 64 dias após o primeiro acasalamento ou inseminação artificial (dia 1) e 43 dias após a implantação (dias 21-22; Concannon *et al.*, 2009).

A manutenção da gestação está sob a dependência dos ovários (Sokolowski, 1971; Tsutsui, 1989). O corpo lúteo é uma glândula endócrina que constitui um local de rápido remodelamento, crescimento, transformação e apoptose de células originárias da camada granulosa, teca, capilares e fibroblastos (Gibori, 1993). Ainda não está definido se o corpo lúteo das cadelas é formado por células endoteliais, macrófagos, linfócitos ou células de tecido conjuntivo (fibroblastos ou fibrócitos), mas acredita-se que tais células são responsáveis por seu funcionamento e desenvolvimento, já que são as responsáveis por fornecer suprimento sanguíneo e hormonal, além de citocinas, fatores de crescimento e outras proteínas, como as endotelinas e os peróxidos, os quais podem afetar a atividade esteroidogênica e sobrevida das células lúteas (Bagavandoss *et al.*, 1990). De acordo com estudo realizado por Nelson *et al.* (1992), as células do corpo lúteo quando cocultivadas com células não lúteas, como os linfócitos T e B, foram capazes de secretar grande quantidade de progesterona, em virtude de um fator denominado de prostina produzido por esses linfócitos.

Progesterona

A progesterona é um dos hormônios que controlam o ciclo reprodutivo da espécie canina, sendo o corpo lúteo o local de origem primária deste hormônio na gestação. De tal modo que a ovariectomia é a responsável pela absorção embrionária ou pelo abortamento em qualquer fase da gestação (Sokolowski, 1971; Kiso e Yamauchi, 1984; Concannon *et al.*, 1987). A secreção de progesterona e a manutenção da gestação são dependentes da secreção pituitária de hormônios luteotróficos, como o LH e a prolactina (Concannon, 1980). Durante o período gestacional, a progesterona promove o desenvolvimento endometrial, mantém a integridade placentária, reduz a atividade miometrial e a sensibilidade à ocitocina, tornando o útero quiescente (Nelson *et al.*, 1992). A síntese de progesterona pode também ser influenciada pelo peso corpóreo e pela faixa etária da cadela. Em fêmeas com idade superior a 2,5 anos e peso maior que 20 kg, observou-se maior número de corpos lúteos com alta eficiência para sintetizar progesterona, comparando-se com cadelas mais jovens e de menor peso (Marinelli *et al.*, 2008). Estudos realizados em cadelas de raças mistas e Beagle demonstram que a concentração de progesterona no período gestacional ou diestro pode variar entre 14,8 - 50,2 ng/mL (Onclin e Verstegen, 1997; Luz *et al.*, 2006). Durante a implantação e desenvolvimento embrionário, observa-se aumento específico dos níveis de progesterona (Concannon *et al.*, 1975, 1977). No período correspondente aos dias 15 até 30 após o pico de LH, os níveis de progesterona podem alcançar valores máximos de 15 ng/mL a 85 ng/mL (Concannon *et al.*, 1983). Todavia, durante o terço final da gestação, os níveis de progesterona declinam para 4 ng/mL a 16 ng/mL, valores que são mantidos por uma a duas semanas, para, em seguida, atingirem níveis de 1 ng/mL a 2 ng/mL no período de 1 a 2 dias que precedem o momento do parto. É importante ressaltar que, durante a segunda fase da gestação, os níveis elevados de progesterona não podem ser usados como um método de diagnóstico de gestação, já que os valores são similares em cadelas gestantes e não gestantes (Concannon, 1986; Hoffmann *et al.*, 2004).

A progesterona parece ser o único hormônio esteroide necessário para a manutenção da gestação. No entanto, o estrógeno pode contribuir para a síntese ou o desenvolvimento dos receptores intracelulares de progesterona (Concannon, 1986). A expressão de receptores de progesterona e receptores de estrógeno alfa está significativamente correlacionada, mas apenas a expressão do receptor de progesterona no corpo lúteo e os níveis de progesterona periférica foram estabelecidos (Papa, 2001). A presença de receptores de progesterona no

corpo lúteo indica que os esteroides ovarianos são importantes para o controle luteal. O aumento da expressão dos receptores de progesterona coincide com o aumento significativo na proliferação de células lúteas e não-lúteas no diestro, bem como com o aumento na concentração de progesterona sérica, o que sugere um efeito estimulador da progesterona de maneira autócrina ou parácrina na formação e na atividade secretória inicial do corpo lúteo (Klein *et al.*, 2001).

Gudermuth *et al.* (1998) demonstraram haver aumento específico nas concentrações de progesterona, estrógeno e testosterona fecal em cadelas gestantes em relação às não gestantes. Tais achados indicam que o corpo lúteo da gestação sintetiza e secreta esteroides em quantidade superior ao corpo lúteo de cadelas não gestantes, entretanto este aumento não é refletido nas concentrações plasmáticas em razão do aumento do volume sanguíneo e consequente hemodiluição, além do maior metabolismo esteroidogênico durante a gestação. Até 30 dias da prenhez, a manutenção do corpo lúteo na espécie canina é independente da ação de gonadotrofinas. Após este período, a queda progressiva nos níveis de progesterona indica o início da regressão luteal, destacando-se também o aumento na expressão de receptores de estrógeno alfa, bem como nos níveis plasmáticos de hormônios como o LH e a prolactina, responsáveis pela manutenção do corpo lúteo nessa fase da gestação (Graff, 1978; De Coster *et al.*, 1983; Concannon *et al.*, 1987; Okkens *et al.*, 1990; Hoffmann *et al.*, 2004).

Prolactina

A prolactina é um hormônio de origem hipofisária, sintetizado principalmente por células lactotróficas da hipófise. Porém, estudos recentes demonstram a síntese deste hormônio em sítios extra-pituitários como glândulas mamárias, placenta, útero e linfócitos-T em várias espécies, bem como no corpo lúteo de bovinos (Ben-Jonathan *et al.*, 1996; Freeman *et al.*, 2000; Shibaya *et al.*, 2006). Várias substâncias estimulam a liberação da prolactina hipofisária, como a serotonina, hormônio liberador de tirotrofina e o óxido nítrico. Por outro lado, o principal sinal neural inibidor da secreção de prolactina é a dopamina (Garthwaite e Hagen, 1979; Lopez *et al.*, 1989; Lafuente *et al.*, 1994; Yen e Pan, 1999).

Semelhante ao que ocorre em humanos e roedores, a prolactina em cadelas também é liberada dos sítios hipofisários de maneira pulsátil (Sassin *et al.*, 1972; Shin e Shi, 1979; Kooistra e Okkens, 2002). Os níveis de prolactina oscilam durante o proestro e o estro, bem como no período que precede a implantação (Reimers *et al.*, 1978; Olson *et al.*, 1982). Os esteróides gonadais são importantes fatores que estimulam a expressão gênica, a síntese, o armazenamento e a liberação da prolactina (Shull e Gorski, 1984).

Durante a segunda fase da gestação, há aumento nas concentrações séricas de prolactina associado ao declínio das concentrações plasmáticas de progesterona (Concannon e Yeager, 1990; Steinetz *et al.*, 1989; Okkens *et al.*, 1997). Segundo estudo realizado por Onclin e Verstegen (1997), os níveis de prolactina plasmática aumentam significativamente em cadelas gestantes aproximadamente 35 dias após o pico de LH. A influência dos níveis de estrógeno durante a progressão da fase lútea nas alterações da secreção de prolactina ainda permanece desconhecida na espécie canina (Kooistra e Okkens, 2002).

Estrógeno

A síntese de estrógeno foi demonstrada no corpo lúteo de suínos, na espécie humana e canina (Gregoraszczyk *et al.*, 1983; Jonhston *et al.*, 1985; Nishyama *et al.*, 1999). No período correspondente aos dias 40 e 65 de gestação, ocorre aumento das concentrações plasmáticas de estrógeno. Tal perfil coincide com o aumento da produção de FSH nessa fase da gestação (Onclin *et al.*, 2001; Luz *et al.*, 2006). A presença de receptores de estrógeno no ovário, associada ao aumento das concentrações séricas deste hormônio, sugere a ação autócrina do estrógeno durante a gestação (Hoffman *et al.*, 2004).

O desenvolvimento e o funcionamento normal da placenta são fundamentais para manter a vida pré-natal e desencadear o parto (Al-Blader, 2006). Em muitas espécies de mamíferos, o estrógeno placentário possui também ações autócrina e parácrina o que, por conseguinte, caracteriza-o como principal responsável pelo crescimento e pela diferenciação da própria placenta (Schuler *et al.*, 2002). Entretanto, a produção placentária do estrógeno em cadelas ainda não está determinada.

Os níveis de estrógeno aumentam lentamente durante a gestação, alcançando valores de 20 pg/mL até 30 pg/mL momentos antes do parto (Concannon *et al.*, 1975). A partir do 40^o dia após o pico de LH, as concentrações plasmáticas de estrógeno alcançam valores médios de 21±6 e 27±7 pg/mL em cadelas não gestantes e gestantes, respectivamente (Luz *et al.*, 2006). Em estudo realizado por Richkind (1983), verifica-se a presença de estrógeno total na urina de cadelas gestantes e não gestantes, porém no período correspondente a três semanas após o acasalamento, a concentração deste hormônio foi maior em cadelas gestantes.

Prostaglandina

Durante as 36 horas até 24 horas progressas ao parto, ocorre declínio abrupto nos níveis plasmáticos de

progesterona, associado ao aumento nos níveis de estrógeno. Tal evento é coincidente ao aumento nos níveis de prostaglandina F2 α (PGF2 α) (Concannon *et al.*, 1989). A PGF2 α é um potente hormônio luteolítico em cadelas. Considera-se que os níveis de PGF2 α secretados durante o fim da gestação apresentam valores significativos, enquanto outros metabólitos oriundos do ácido araquidônico, como as prostaciclina (PGE2 e PGI2), são liberados basalmente (Concannon, 1986). A rápida elevação da PGF2 α ao fim do período gestacional está relacionada direta ou indiretamente com a luteólise pré-parto, diminuição da temperatura corporal e contração miometrial (Luz *et al.*, 2006). A diferença na proporção de secreção PGF2 α :PGE2 e PGI2 pode representar um mecanismo protetor para manter a função lútea, bem como promover a manutenção do tônus vascular uterino e miometrial durante a gestação. Provavelmente, a unidade feto-placentária seja a principal responsável pela secreção de quantidades significativas de PGF2 α , suficientes para causar a lise do corpo lúteo ao fim do período gestacional. No entanto, tal evento ainda não foi estabelecido em cadelas (Concannon, 1986).

Principais hormônios do parto

A redução na proporção progesterona: estrógeno é, de fato, o mais importante evento endócrino na gestação, resultando no descolamento placentário, na dilatação da cérvix e no aumento da contratilidade uterina e culminando com o parto. Entretanto, outros fatores também podem estar envolvidos (Concannon, 1986). Nas 24 a 12 horas que precedem o parto, ocorre alteração na temperatura corporal materna, além de alterações comportamentais como inquietação e diminuição do apetite. Tais mudanças resultam do mecanismo compensatório dos centros reguladores da temperatura, em resposta ao efeito hipertérmico da queda da progesterona e em razão do aumento nos níveis de prolactina, respectivamente (Concannon *et al.*, 1977; Concannon, 1986). Há controvérsias em relação à queda de temperatura e ao início do trabalho de parto. Segundo Veronesi *et al.* (2002), o declínio nos níveis plasmáticos de progesterona no período correspondente ao pré-parto (48h) e no momento do parto é parcialmente responsável pela queda da temperatura, sendo tal mecanismo termoregulatório ao final da gestação um evento mais complexo e ainda não totalmente compreendido. A ausência de correlação entre a diminuição na concentração de progesterona plasmática e a variação na temperatura corporal torna a mensuração da temperatura um parâmetro de baixa confiabilidade para prever o parto nessa espécie (Veronesi *et al.*, 2002).

Cortisol

O completo desenvolvimento fetal e a maturação do eixo hipófise-adrenal-fetal também são importantes para o início do parto. O aumento dos níveis de cortisol materno é decorrente provavelmente do aumento na secreção de cortisol fetal (Concannon, 1986; Concannon *et al.*, 1989). Sabe-se que o cortisol fetal é o responsável pela conversão placentária de progesterona em estrógeno, promovendo a diminuição dos níveis plasmáticos de progesterona e, conseqüentemente, síntese e secreção de PGF2 α uterina (Martin e Crump, 2003).

Relaxina

Durante a gestação e no parto, outro hormônio de grande relevância é a relaxina. A relaxina é um hormônio sintetizado no corpo lúteo em várias espécies e no endométrio ou na placenta em outras espécies (Klonisch *et al.*, 1999). Até o momento, este hormônio não foi detectado em cadelas não-gestantes, portanto a relaxina é considerada um hormônio específico da gestação (Downing e Sherwood, 1985, Verstegen-Onclin e Verstegen, 2008). A relaxina é descrita por inibir a contração miometrial, aumentar o crescimento uterino para acomodação do desenvolvimento fetal e fornecer flexibilidade à pelve e distensão à cérvix uterina, preparando o útero para o parto (Schwabe *et al.*, 1978; Downing e Sherwood, 1985). Os níveis plasmáticos de relaxina encontram-se elevados a partir da quarta semana de gestação, alcançando níveis máximos (5 ng/mL) entre a sexta e oitava semanas. Após esse período até o momento do parto, seus valores declinam (Steinetz *et al.*, 1987; Verstegen-Onclin e Verstegen, 2008). Segundo Stewart (1989), a concentração de relaxina de origem placentária durante a gestação é superior à lútea ou uterina em cadelas. No entanto, a concentração nos tecidos lúteos é maior a partir do 35^o dia de gestação quando comparado aos demais períodos. Há várias controvérsias com respeito ao estímulo para liberação da relaxina na gestação. Alguns estudos demonstram que a prolactina apresenta efeito luteotrófico para a progesterona, bem como para a relaxina durante a gestação. Entretanto, alguns pesquisadores acreditam que a prolactina em cadelas não apresenta tal efeito e que outras substâncias sejam necessárias para a ocorrência desse efeito trópico (como os lactogênios placentários; Saluja *et al.*, 1973; Jones *et al.*, 1976; Papkoff, 1976; Steinetz *et al.*, 1990; Concannon *et al.*, 2001; Günzel-Apel *et al.*, 2006).

Ocitocina

A ocitocina é um hormônio sintetizado no núcleo paraventricular e supraóptico do hipotálamo e armazenado em grânulos secretórios na hipófise posterior. Quando liberado na circulação, causa contração do

miométrio durante o parto e a descida do leite na lactação (Mitchell *et al.*, 1998). A sensibilidade miométrial à ocitocina é importante na contração uterina, pois tal hormônio é liberado em resposta à pressão fetal na cérvix ou vagina (Concannon, 1986). Vários estudos demonstram que a sensibilidade do miométrio à ocitocina aumenta durante o parto, como resultado do aumento da concentração do receptor de ocitocina e da concentração local deste hormônio (Fuchs *et al.*, 1983; Wu *et al.*, 1996).

Chann *et al.* (1993) postularam a existência de dois subtipos de receptores de ocitocina no útero de ratas, os quais estão relacionados com a formação de junções que permitem o transporte de substâncias entre as células miométriais e a liberação de prostaglandina no endométrio e na placenta. A ocitocina estimula a contração do miométrio por dois mecanismos paralelos. O primeiro envolve a ação direta do receptor de ocitocina nas células do miométrio, resultando na mudança da concentração de cálcio intracelular e no aumento da contratilidade uterina (Challis *et al.*, 1994). O segundo mecanismo envolve a estimulação indireta da contração uterina por meio da síntese de prostaglandina pelo endométrio, (Fuchs *et al.*, 1983; Riemer *et al.*, 1986). Por este motivo, a existência de dois subtipos de receptores de ocitocina uterinos é um fator importante a se levar em conta para a escolha de antagonistas como tocolíticos no tratamento clínico para o parto prematuro. Para serem eficientes, os antagonistas da ocitocina precisam bloquear simultaneamente a ação uterotônica e a ação liberadora de prostaglandina da ocitocina.

A função da ocitocina no trabalho de parto não requer necessariamente o aumento de sua concentração plasmática (Wu *et al.*, 1996). Em mulheres, a concentração de ocitocina plasmática mantém-se baixa durante toda a gestação e no parto. No entanto, o tratamento com estradiol resulta em acréscimo dos níveis circulantes de ocitocina (Amico *et al.*, 1981; Mitchell *et al.*, 1998). Recentemente, Klarenbeek *et al.* (2007) demonstraram que as concentrações de ocitocina em cadelas ao final da gestação permanecem baixas, podendo oscilar e aumentar somente no estágio expulsivo do parto, mas não necessariamente no momento da expulsão fetal, o que sugere que a ocitocina circulante apresente influência mínima para o início do parto em cadelas.

Muitas são as controvérsias a respeito da função da ocitocina no parto, já que vários estudos recentes demonstram a expressão gênica da ocitocina em tecidos como endométrio, placenta, ovário, testículos, epidídimos, ductos deferentes, timo, coração e rins, assim como no tecido cerebral (Mitchell *et al.*, 1997; Kimura e Ivell, 1999; Gimple e Fahrenholz, 2001). Portanto, além da função endócrina da ocitocina no parto, sugere-se também uma ação parácrina ou autócrina desse hormônio (Mitchell *et al.*, 1997).

Considerações finais

Considerações importantes a respeito da fisiologia e endocrinologia da gestação e do parto na espécie canina foram abordadas na presente revisão. Adicionalmente, as informações relatadas visam a contribuir para que seja possível adotar uma sistemática para a hormonioterapia nas afecções maternas ou fetais durante a gestação e o parto, baseada precipuamente no conhecimento científico das interações hormonais em tais momentos fisiológicos.

Embora na última década os estudos relacionados à endocrinologia da gestação e do parto em cadelas tenham elucidado diversas interações e padrões hormonais, futuras pesquisas devem ser conduzidas para contribuir com o conhecimento técnico-científico nesta espécie. As novas técnicas de endocrinologia molecular tornam os eventos hormonais passíveis de reconhecimento, especialmente visando ao esclarecimento dos mecanismos de ação e interação hormonais nas diversas espécies animais.

Referências

- Al-Blader DM.** Estrogen receptors alpha e beta in rat placenta: detection by RT-PCR, real-time PCR and Western blotting. *Reprod Biol Endocrinol*, v.4, n.13, p.1-10, 2006.
- Amico JA, Seif SM, Robinson AG.** Oxytocin in human plasma: correlation with neurophysin and stimulation with estrogen. *J Clin Endocrinol Metab*, v.52, p.988-993, 1981.
- Bagavandoss P, Wiggins RC, Kunkel, SL, Remick DG, Keyser, PL.** TNF alpha production and accumulation of inflammatory cells in corpus luteum of pseudopregnancy and pregnancy in rabbits. *Biol Reprod*, v.42, p.367-376, 1990.
- Ben-Jonathan N, Mershon JL, Allen DL, Steinmetz RW.** Extrapituitary prolactin: distribution, regulation, function, and clinical aspects. *Endocr Rev*, v.17, p.639-669, 1996.
- Challis JRG, Lye SJ.** Parturition. In: Knobil E, Neil J (Ed). *The physiology of reproduction*. New York: Raven Press, 1994. p.985-1031.
- Chan WY, Chen DL, Manning, M.** Oxytocin receptor subtypes in the pregnant rat myometrium and decidua: pharmacological differentiations. *Endocrinology*, v.132, p.1381-1386, 1993.
- Concannon PW.** Canine pregnancy and parturition. *Vet Clin N Am Small Anim Pract*, v.16, p.453-475, 1986.
- Concannon PW.** Effects of hypophysectomy and of LH administration on luteal phase plasma progesterone levels in the beagle bitch. *J Reprod Fertil*, v.58, p.407-410, 1980.
- Concannon PW, Castracane VD, Temple M, Montanez A.** Endocrine control of ovarian function in dogs and

- other carnivores. *Anim Reprod*, v.6, p.172-193, 2009.
- Concannon PW, Hansel W, McEntee K.** Changes in LH, progesterone and sexual behavior associate with preovulatory luteinization in the bitch. *Biol Reprod*, v.17, p.604-615, 1977.
- Concannon PW, Hansel W, Visek W.** The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH and progesterone. *Biol Reprod*, v.13, p.112-121, 1975.
- Concannon PW, Isaman L, Frank DA, Michel FJ, Currie WB.** Elevated concentrations of 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F₂alpha in maternal plasma during prepartum luteolysis and parturition in dogs (*Canis familiaris*). *J Reprod Fertil*, v.84, p.71-77, 1989.
- Concannon P, Tsutsui T, Shille V.** Embryo development, hormonal requirements and maternal responses during canine pregnancy. *J Reprod Fertil Suppl*, n.57, p.169-179, 2001.
- Concannon PW, Weinstein P, Whaley S, Frank D.** Suppression of luteal function in dogs by luteinizing hormone antiserum and by bromocryptine. *J Reprod Fertil*, v.81, p.175-180, 1987.
- Concannon PW, Whaley S, Lein D, Wissler R.** Canine gestation length: variation related to time of mating and fertile life of sperm. *Am J Vet Res*, v.44, p.1819-1821, 1983.
- Concannon PW, Yeager AE.** Endocrine, ultrasonographic, radiographic and clinical changes during pregnancy, parturition, and lactation in dogs. In: Proceedings of the Society for Theriogenology Annual Meeting. Montgomery, AL: SFT, 1990. p.197-223.
- DeCoster R, Beckers JF, Beerens D, De Mey J.** A homologous radioimmunoassay for canine prolactin: plasma levels during the reproductive cycle. *Acta Endocrinol*, v.103, p.473-478, 1983.
- Downing SM, Sherwood OD.** The physiological role of relaxin in the pregnant rat. I. The influence of relaxin on parturition. *Endocrinology*, v.116, p.1200-1205, 1985.
- Freeman ME, Kanyicska B, Lerante A, Nagy G.** Prolactin: structure, function and regulation of secretion. *Physiol Rev*, v.80, p.1523-1631, 2000.
- Fuchs AR, Fuchs F, Husslein P, Soloff MS.** Oxytocin receptors in the human uterus during pregnancy and parturition. *Am J Obstet Gynecol*, v.150, p.734-739, 1983.
- Garthwaite TL, Hagen TC.** Evidence that serotonin stimulates a prolactin-releasing factor in the rat. *Neuroendocrinology*, v.29, p.215-220, 1979.
- Gibori G.** The corpus luteum of pregnancy. In: Adashi EY, Leung PCK (Ed.). *The ovary*. New York: Raven Press, 1993. p.262-317.
- Gimpl G, Fahrholz F.** The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiol Rev*, v.81, p.629-683, 2001.
- Graff KJ.** Serum oestrogen, progesterone and prolactin concentration in cyclic, pregnant and lactating beagle dogs. *J Reprod Fertil*, v.52, p.9-14, 1978.
- Gregoraszczuk E, Zia D, Wierchoś E, Murawski M, Gertler A.** Placental lactogen as a regulator of luteal cells function during pregnancy in sheep. *Theriogenology*, v.3, p.877-885, 1983.
- Gudermuth DF, Concannon PW, Daels PF, Lasley BL.** Pregnancy-specific elevations in fecal concentrations of estradiol, testosterone and progesterone in the domestic dog (*Canis familiaris*). *Theriogenology*, v.50, p.237-248, 1998.
- Günzel-Apel A-R, Zabel S, Bunck CF, Dieleman SJ, Einspanier A, Hoppen HO.** Concentrations of progesterone, prolactin and relaxin in the luteal phase and pregnancy in normal and shortcycling German Shepherd dogs. *Theriogenology*, v.66, p.1431-1435, 2006.
- Hoffmann B, Büsches F, Engel E, Kowalewski MP, Papa P.** Regulation of corpus luterum-function in the bitch. *Reprod Domest Anim*, v.39, p.232-230, 2004.
- Johnston SD, Kiang DT, Seguin BE, Hegstad RL.** Cytoplasmic estrogen and progesterone receptors in canine endometrium during the estrous cycle. *Am J Vet Res*, v.46, p.1653-1658, 1985.
- Jones GE, Brownstone AD, Boins AR.** Isolation of canine prolactin by polyacrylamide gel electrophoresis. *Acta Endocrinol*, v.82, p.691-705, 1976.
- Kim Y, Travis AJ, Meyers-Wallen VN.** Parturition prediction and time of canine pregnancy. *Theriogenology*, v.68, p.1177-1182, 2007.
- Kimura T, Ivell R.** The oxytocin receptor. *Results Probl Cell Differ*, v.26, p.135-168, 1999.
- Kiso Y, Yamauchi S.** Histochemical study on hydroxysteroid dehydrogenase in the trophoblast of the dog placenta. *Jpn J Vet Sci*, v.36, p.219-223, 1984.
- Klarenbeek M, Okkens AC, Kooistra HS, Mol JA, Bevers MM, Taverne MAM.** Plasma oxytocin concentrations during late pregnancy and parturition in the dog. *Theriogenology*, v.68, p.1169-1176, 2007.
- Klein R, Papa P, Hoffmann B.** Expression of progesterone and estrogen receptors in the canine corpus luteum in relation to proliferative activity. In: Jahres-Tagung Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung. Giessen: Verlag der Dt. Vet. Med. Ges., 2001. p.86.
- Klonisch T, Hombach-Klonisch S, Froehlich C, Kauffold J, Steger K, Steinetz BG, Fischer B.** Canine preprorelaxin: nucleic acid sequence and localization within the canine placenta. *Biol Reprod*, v.60, p.552-557, 1999.
- Kooistra HS, Okkens AC.** Secretion of prolactin and growth hormone during progression of the luteal phase in

- healthy dogs: a review. *Mol Cell Endocrinol*, v.197, p.167-172, 2002.
- Lafuente A, Marco J, Esquifino AI.** Physiologica roles of thyrotrophin-releasing hormone and vasoactive intestinal peptide on the pulsatile secretory patterns of prolactin in pituitary-grafted female rats. *J Endocrinol*, v.142, p.581-586, 1994.
- Lopez FJ, Dominguez JR, Sanchez-Franco F, Negro-Vilar A.** Role of dopamine and vasoactive intestinal peptide in the control of pulsatile prolactin secretion. *Endocrinology*, v.124, p.527-535, 1989.
- Luz MR, Bertan CM, Binelli M, Lopes MD.** Plasma concentrations of 13,14-dihydro-15-keto prostaglandin F2-alpha (PGFM), progesterone and estradiol in pregnant and nonpregnant diestrus cross-bred bitches. *Theriogenology*, v.66, p.1436-1441, 2006.
- Marinelli L, Rota A, Carnier P, Da Dalt L, Gabai G.** Factors affecting progesterone production in corpora lutea from pregnant and diestrus bitches. *Anim Reprod Sci*, p.1-12, 2008.
- Martin PA, Crump MH.** The adrenal gland. In: Pineda MH, Dooley MP (Ed.). *McDonald's veterinary endocrinology and reproduction*, 5.ed. Ames: Iowa State Press, 2003. p.165-200.
- Mitchell BF, Fang X, Wong S.** Metabolism of oxytocin in rat uterus and placenta in late gestation. *Biol Reprod*, v.57, p.807-812, 1997.
- Mitchell BF, Fang X, Wong S.** Oxytocin: a paracrine hormone in the regulation of parturition? *J Reprod Fertil*, v.3, p.113-122, 1998.
- Nelson SE, McLean MP, Jayatilak PG, Gibori G.** Isolation, characterization and culture of cells subpopulations forming the pregnant rat corpus luteum. *Endocrinology*, v.130, p.954-966, 1992.
- Nishiyama T, Tsumagari S, Ito M, Kimura J, Watanabe G, Taya K, Takeishi M.** Immunohistochemical study of steroidogenic enzymes in the ovary and placenta during pregnancy in the dog. *Anat Histol Embryol*, v.28, p.125-129, 1999.
- Okkens AC, Bevers MM, Dieleman SJ, Willemse AH.** Evidence for prolactin as the main luteotrophic factor in the cycling dog. *Vet Q*, v.12, p.193-201, 1990.
- Olson PN, Bowen RA, Behrendt MD, Olson JD, Nett TM.** Concentrations of reproductive hormones in canine serum throughout late anestrus, proestrus and estrus. *Biol Reprod*, v.27, p.1196-1206, 1982.
- Onclin K, Lauwers F, Verstegen JP.** FSH secretion patterns during pregnant and nonpregnant luteal periods and 24h secretion patterns in male and female dogs. *J Reprod Fertil Suppl*, v.57, p.15-21, 2001.
- Onclin K, Verstege JP.** Secretion patterns of plasma prolactin and progesterone in pregnant compared with nonpregnant dioestrus beagle bitches. *J Reprod Fertil Suppl*, v.51, p.203-208, 1997.
- Papa P.** *Darstellung von estradiol-17beta- und progesteronrezeptoren im corpus luteum der Hündin zu definierten zeitpunkten im östrus und diöstrus.* Dissertation (Med. Vet.) - Justus-Liebig-Universität, Gießen, 2001.
- Papkoff H.** Canine pituitary prolactin: Isolation and partial purification. *Proc Soc Exp Biol Med*, v.153, p.498-500, 1976.
- Reimers T, Phemister R, Niswender G.** Radioimmunological measurement of follicle stimulating hormone and prolactin in the dog. *Biol Reprod*, v.19, p.673-679, 1978.
- Richkind M.** Possible use of early morning urine for detection of pregnancy in dogs. *Vet Med Small Anim Clin*, v.78, p.1067-1068, 1983.
- Riemer RK, Goldfien AC, Goldfien A, Roberts JM.** Rabbit uterine oxytocin receptors and in vitro contractile response: abrupt changes at term and the role of eicosanoids. *Endocrinology*, v.119, p.699-709, 1986.
- Saluja PG, Gronow M, Hamilton JM.** Measurement of canine pituitary prolactin. *J Endocrinol*, v.56, p.245-258, 1973.
- Sassin JF, Frantz AG, Weitzman ED, Kapen S.** Human prolactin: 24 hour pattern with increased release during sleep. *Science*, v.177, p.1205-1207, 1972.
- Schuler G, Wirth C, Teichmann U, Failing K, Leiser R, Thole H, Hoffmann B.** Occurrence of estrogen receptor α in bovine placentomes throughout mid and late gestation and parturition. *Biol Reprod*, v.66, p.976-982, 2002.
- Schwabe C, Steinetz BG, Weiss G, Segaloff A, McDonald JK, O'Brine EM, Hochman J, Carriere BT, Goldsmith LT.** Relaxin. *Rec Prog Horm Res*, v.34, p.123-199, 1978.
- Shibaya M, Murakami S, Tatsukawa Y, Sarzynski JD, Acosta TJ, Okuda K.** Bovine corpus luteum is an extrapituitary site of prolactin production. *Mol Reprod Dev*, v.73, p.512-519, 2006.
- Shin SH, Shi HJ.** Unsuppressed prolactin secretion in the male rat is pulsatile. *Neuroendocrinology*, v.28, p.73-81, 1979.
- Shull JD, Gorski J.** Estrogen stimulates prolactin gene transcription by a mechanism independent of pituitary protein synthesis. *Endocrinology*, v.114, p.1550-1557, 1984.
- Sokolowski JH.** The effects of ovariectomy on pregnancy maintenance in the bitch. *Lab Anim Sci*, v.21, p.696-699, 1971.
- Steinetz BG, Goldsmith LT, Harvey HJ, Lust G.** Serum relaxin and progesterone concentrations in pregnant, pseudopregnant, and ovariectomized, progestin-treated pregnant bitches: Detection of relaxin as a marker of pregnancy. *Am J Vet Res*, v.50, p.68, 1989.



- Steinetz BG, Goldsmith LT, Lust G.** Plasma relaxin level in pregnant and lactating dogs. *Biol Reprod*, v.37, p.719-725, 1987.
- Steinetz BF, Laura TG, Hasan SH, Lust G.** Diurnal variation of serum progesterone, but not relaxin, prolactin, ou estradiol-17beta in the pregnant bitch. *Endocrinology*, v.127, p.1057-1063, 1990.
- Stewart D.** Partial purification and characterization of canine placental relaxin. In: Annual Meeting of the Endocrine Society, 71, Seattle, WA. *Program ...* Seattle, WA Endocrine Society, 1989. p.528.
- Taverne MA, Naaktgeboren C, Elsaesser F, Forsling ML, van der Weyden GC, Ellendorff F, Smidt, D.** Myometrial electrical activity and plasma concentrations of progesterone, oestrogens and oxytocin during late pregnancy and parturition in the miniature pig. *Biol Reprod*, v.21, p.1125-1134, 1979.
- Tsutsui T.** Gamete physiology and timing of ovulation and fertilization in dogs. *J Reprod Fertil Suppl*, v.39, p.269-275, 1989.
- Veronesi MC, Battocchio M, Marinelli L, Faustini M, Kindahl H, Cairoli F.** Correlations among body temperature, plasma progesterone, cortisol and prostaglandin F2 α of the periparturient bitch. *J Vet Med Assoc*, v.49, p.264-268, 2002.
- Verstegen-Onclin K, Verstegen J.** Endocrinology of pregnancy in the dog: A review. *Theriogenology*, v.70, p.291-299, 2008.
- Wu WX, Derks JB, Nathanielsz PW.** Effects of glucocorticoids on estrogen receptor messenger ribonucleic acid in the pregnant ovine myometrium in vivo and in vitro. *Biol Reprod*, v.54, p.230-241, 1996.
- Yen SH, Pan JT.** Nitric oxide plays an important role in the diurnal change of tuberoinfundibular dopaminergic neuronal activity and prolactin secretion in ovariectomized, estrogen/progesterone-treated rats. *Endocrinology*, v.140, p.286-291, 1999.
-